

REVISTA SISTEMAS DE PRODUCCIÓN AGROECOLÓGICOS

GRUPO DE INVESTIGACIÓN DE AGROFORESTERIA UNILLANOS



VOLUMEN 5 NÚMERO 1 AÑO 2014

EDITORIAL

Históricamente los pobladores de la atillanura han desarrollado prácticas de producción Silvo-pastoril, como una forma de adaptación a las condiciones medio ambientales que ofrece el paisaje. Cuando dichos sistemas de producción surgieron a mediados del siglo XIX, los mal llamados conquistadores de los Llanos, descubrieron una similitud de su topografía con las llanuras del África Ecuatorial, y decidieron ampliar la frontera ganadera, colonizando con población bovina las sabanas del Casanare, Vichada, Arauca y Meta, estableciendo sistemas de administración por medio de haciendas y fundos, modelo que privilegió el progreso de una cultura de producción, que aún hoy está en uso por algunos llaneros.

El modelo, que desde el grupo de Investigación de Agroforestería hemos denominado “Modelo Llanero Cultural y Tradicional –MLCT” consiste en el aprovechamiento productivo de recursos naturales brindados por diferentes ecosistemas de la Orinoquia; usando pasturas nativas para la alimentación de ganado como: el guaratara (*Axonopus purpusii*), paja de Llano (*Pusaalum plicatulum*) y lambedera (*Leersua hexandra*), además se encuentran “matas de monte”, y selvas tropicales, donde predominan forestales y forrajeras silvestres, proporcionando a su vez, fronteras naturales entre los fundos y haciendas, aportando su protección al recurso hídrico que corre por morichales y caños, los cuales mantienen los afluentes y tributantes del río Orinoco. Por otro lado, las condiciones naturales generaron razas criollas como: el “Ganado Criollo San Martinero” y “El Ganado Criollo Casanareño”, que representan un gran valor genético para su preservación como germoplasma, patrimonio que se ve constantemente amenazado, por caprichos de administradores de algunas entidades, por prestar mayor atención a “cantos de sirenas” venidas de otras latitudes, que terminan en un derroche de tiempo y recursos.

Ancestralmente, son tres los elementos fundamentales para el manejo del sistema de producción “MLCT”, primero: la rotación de las sabanas nativas, basadas en las condiciones climáticas y los ciclos de germinación de las pasturas, segundo: el canto de vaquería, una forma de restricción que procura bienestar animal, y tercero: las razas criollas, que con su capacidad genética tienen gran rusticidad que le permite adaptarse a las condiciones de la Orinoquia, sin detrimento de su reproducción, factor que se ha convertido en una limitante para razas introducidas, como: las Europeas y *Bos Indicus*. También existen elementos negativos y problemas en el “Modelo”, siendo los más alarmantes, las quemadas de sabana, con efectos adversos en los recursos naturales (flora, fauna, suelo, atmósfera y otros factores), afectando de manera importante la productividad y los índices de ganancia de peso, que en contra posición con las razas introducidas, pueden ser menores utilizando las criollas.

Sin embargo, donde hoy vemos problemas, existen oportunidades, siendo necesario que la comunidad académica de las Ciencias Agrarias de la región tenga la iniciativa de investigar y formular acciones para un profundo entendimiento de las potencialidades del contexto Orinoquense, asumiendo seriamente los saberes tradicionales que por dos siglos los llaneros han desarrollado, para lo cual se requiere herramientas participativas, donde las comunidades jueguen un papel de validación de los resultados de estas investigaciones.

LUIS CARLOS RAMÍREZ VILLA

Docente UNILLANOS

lcramirez@unillanos.edu.co

UNIVERSIDAD DE LOS LLANOS GRUPO DE INVESTIGACIÓN DE AGROFORESTERIA

Caracterización morfométrica y determinación de índices zoométricos de un hato de ganado criollo Blanco Orejinegro (BON) puro, en Pacho (Cundinamarca)

Characterization and identification of indices morphometric zoometric of a pure White Orejinegro (BON) creole cattle herd, in Pacho (Cundinamarca)

Rojas Jiménez Jenny Soad¹; Casas Pulido Mónica del Pilar¹; y
Martínez Correal Germán²

¹Médico Veterinario Zootecnista y ²Médico Veterinario, MSc, PhD

asocriollo@hotmail.com

Recibido 17 de Enero 2014, Aceptado 30 de Abril 2014

RESUMEN

Esta investigación fue realizada en Pacho, Cundinamarca, Colombia, donde se evaluaron vacas de la raza criolla Blanco Orejinegro (BON), tomando un total de 18 medidas Morfométricas por animal; con la ayuda de algunos materiales tales como cinta métrica y bastón zoométrico. Estas medidas permitieron la elaboración de una matriz de correlaciones para definir si estos animales responden a un modelo armónico; determinando así la “Caracterización Morfométrica de la Raza”. Según el análisis de correlaciones, se encontró que en el 88,23% de los casos existe una correlación positiva entre las variables. Por lo que se define que estos animales de raza BON, poseen un alto grado de armonicidad en su modelo morfoestructural.

Palabras clave: Criollo, Blanco Orejinegro, morfometría, modelo armónico, índice zoométrico.

ABSTRACT

This research was conducted in Pacho, Cundinamarca, Colombia, where cows of the creole breed Blanco Orejinegro were evaluated with the help of a metric tape

and zoometric gad. These measures permitted the elaboration of a correlation matrix defining that these animals correspond to a harmonic model. This way, we characterized the morphometrics characteristics of the BON breed. According to the correlation analysis, this study or the present work found that in the 88, 23% of de cases exist a positive correlation between the variables. Therefore, it is defined that these animals of the BON breed have a high degree of harmonicity in their morphostructural model.

Keywords: Creole, Blanco Orejinegro, morfometric, harmonic model, index morphometric.

INTRODUCCIÓN

Las razas criollas colombianas; Blanco Orejinegro, Casanareño, Costeño con cuernos, Romosinuano, Hartón del Valle, Chino Santandereano, Velásquez y Lucerna, se originaron del ganado introducido por los conquistadores españoles en el siglo XV y hasta comienzos del siglo XX fueron la base genética de todos los sistemas de producción bovina, especialmente en el trópico bajo colombiano. Desde su introducción, fueron sometidas a un largo proceso de selección natural que les permitió adquirir características adaptativas de gran importancia económica, tales como: eficiencia reproductiva; tolerancia a enfermedades y parásitos; habilidad para soportar condiciones extremas de temperatura y humedad, y para utilizar forrajes fibrosos; constituyéndose así en el mayor patrimonio biológico y económico para la provisión de alimentos (carne, leche), pieles y trabajo en los diferentes sistemas de producción de la variada geografía del trópico colombiano (Martínez, 1995; Valderrama, 2003).

Husu, (2004) afirma que si existe una completa armonía entre el animal y su ambiente, éste progresará y será un productor eficiente, si se puede entender las particularidades de un medio ambiente, será posible seleccionar aquellos animales que en dicho ambiente están mejor adaptados. El medio ambiente es el factor decisivo determinante del tamaño y función de los animales, ya que estos poseen

una relación directa con la disponibilidad de alimentos. El tamaño corporal es otro aspecto importante al seleccionar el genotipo, cuando los recursos alimenticios son limitados (Warris, 2004).

Por esta razón es importante llevar a cabo trabajos de investigación en donde se oriente al criador sobre el tipo de animal que tenga bajos requerimientos de mantenimiento, buen potencial de producción, altas tasas de reproducción para que valga la pena mantenerlas durante los tiempos críticos de sequía; y por último, que sean animales que sepan tomar ventaja de los periodos de abundancia de forraje (MADR, 2003).

Una de las siete razas criollas que actualmente se reconocen en el país es el Blanco Orejinegro (BON), el número de ejemplares BON racialmente puros que se conservan en el territorio colombiano apenas asciende a 2.866 animales (Buitrago *et al.*, 1999). Es imperativo entonces que esta única e invaluable fuente genética sea protegida antes que desaparezca, debido a su extinción o a su disolución por el cruzamiento indiscriminado y absorbente con las razas modernas de ganados *taurus* o *indicus*, altamente eficientes en la producción de leche o carne, pero las europeas (*taurus*) están inadaptadas al medio tropical (Martínez, 1992; Vaca, 2002).

Uno de los mayores inconvenientes que tienen que afrontar las razas criollas es la poca difusión de sus bondades productivas. Aunque no son muchos si son importantes los estudios que se han realizado evaluando parámetros reproductivos, productivos y genéticos relacionados con el ganado criollo y especialmente con el BON. De la continuación de estos estudios y de la aplicación de sus resultados, depende que se ofrezcan a los ganaderos criadores de ganado criollo puro y comercial (BON) ejemplares seleccionados que puedan ser utilizados en el mejoramiento de las características productivas de interés económico (López *et al.*, 2001).

El ganado Blanco Orejinegro ofrece condiciones fisiológicas admirables para adaptarse a terrenos pobres y quebrados de nuestro medio, sobrevivir y reproducirse hasta una edad avanzada. Ha sido manejado durante muchos años solo con fines de conservación y multiplicación, sin parámetros definidos de selección, pero debido a los limitantes tecnológicos las tasas de natalidad no sobrepasan el 50%, la mortalidad en jóvenes es cercana al 10% y superior al 2% en adultos; con los anteriores parámetros de reproducción y con los reducidos índices de crecimiento, inferiores a 300 gramos/día en el período predestete, el peso a esta edad (9 meses) es de escasos 136 kg; es decir que la producción de kilos por cada vaca expuesta a toro en el hato, es inferior a 60 kg/vaca/año (Martínez, 1992; López *et al.*, 2001).

Por lo tanto, el presente trabajo ha pretendido estudiar el uso de ciertas medidas bovinométricas que permitan no solamente establecer el biotipo de animal adecuado a nuestro sistema de producción, sino predecir las características productivas de los animales con esos biotipos, obteniendo así la uniformidad de la raza.

MATERIALES Y MÉTODOS

El proyecto se realizó en la hacienda, El Palmar de la Macorina, ubicada en la vereda Bermejil, en el municipio de Pacho, departamento de Cundinamarca, Colombia, que cuenta con una altura máxima de 1600 m.s.n.m., temperatura de 23 °C y Humedad relativa del 85% promedio anual. Los animales que se evaluaron fueron ejemplares hembras Blanco Orejinegro, vacías y mayores de 3 años.

Se tomaron 18 medidas morfométricas por animal, y se hallaron los correspondientes índices zoométricos, para lo cual la sujeción se realizó en brete manteniendo los animales en una superficie lisa, plana y nivelada, con las cuatro patas formando un rectángulo y la cabeza gacha, de manera que la nuca y la cruz

quedarán de la misma altura. Las medidas de diámetros y longitudes, fueron tomadas con bastón zoométrico y los perímetros con cinta métrica convencional.

Los datos fueron sometidos a análisis de correlación lineal simple (r) con el fin de determinar el grado de asociación entre las variables morfométricas como: alzada, mediciones bovinométricas, perímetro torácico de caña, también se estableció la armonicidad del modelo morfométrico incluyendo análisis de índices morfométricos que se clasifican en raciales y funcionales utilizando el programa Statistical Analysis System (SAS), (1995).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

1. Medidas Morfométricas:

Alzadas: Alzada a la cruz (AC): $122,7 \pm 4.24$ cm. Esto indica que son animales de talla media. Valores similares se encontraron en las razas Casanareño, Caqueteño, Sanmartinero y Hartón del Valle, las cuales oscilan entre 120, 140, 130 y 129 cm., respectivamente. Alzada a la entrada de la grupa (AEG): $127,2 \pm 3.54$ cm. Indica que son animales de mayor alzada en el tren posterior que en el anterior, posiblemente para facilitar su desplazamiento en terreno montañoso. Con la similitud de las alzadas (cruz y grupa) se deduce la rectitud de la línea dorso lumbar, la cual es de excepcional importancia en las razas bovinas especializadas en la producción de carne y trabajo principalmente (Figuras 1 y 2, Tabla 1). Esta similitud de medidas en la raza BON indica que es un animal de trabajo y su selección se debería orientar a la producción de carne. Valores similares, como 135 y 127 cm. de AEG fueron reportados por Sierra y Velásquez (2000) y Sastre (2003) en la raza Sanmartinero y Casanareño respectivamente.

Mediciones bovinométricas: Ancho de cadera (AnC): $49,1 \pm 4.02$ cm. Longitud de grupa (LG): 51 ± 3.3 cm. Ancho posterior de la grupa (AG): $47,2 \pm 3.38$ cm. Anchura Inter-isquiática (All): $11 \pm 1,5$ cm. Ancho del Lomo (AL): $35,8 \pm 2,6$ cm. Longitud Occipito Isquial (LOI): $184 \pm 8,8$ cm. Distancia entre Encuentros (DE):

41,4 ± 3,2 cm. Diámetro Longitudinal (DL): 147,9 ± 8.18 cm. Diámetro Bicostal (DB): 68,1± 4.09 cm. Diámetro Dorsoesternal (DD): 67,7 ± 3,17 cm. Longitud de Cara (CR): 30,9 ± 2,6 cm. Longitud de Cráneo (LC): 19,2 ± 1,6 cm. Ancho de Cabeza (ACz): 49 ± 1,3 cm. Longitud de Cabeza (LCz): 50 ± 2,4 cm (Figuras 1 y 2, Tabla 1).

Perímetro: Perímetro Torácico (PT): 175,2 ± 8,9 cm. Perímetro de Caña (PC): 16,5 ± 0,8 cm (Figuras 1 y 2, Tabla 1).

El diámetro longitudinal, tuvo un promedio de 147.9 ± 8.18 cm, siendo animales más largos que otras razas criollas como por ejemplo la Casanareña, en la cual se reporta una media, en hembras, de 138.33 cm. La mayor longitud del BON le permite ser clasificado como un animal con mayor capacidad cárnica que el Casanareño. Respecto al DD (67,7 ± 3,17 cm) datos similares fueron reportados por Sastre, (2003) con diámetros bicostales de 63,3 cm. en vacas Casanareño y 64,7 cm. de DB en vacas Caqueteñas reportados por Floriano y Trujillo (2005).

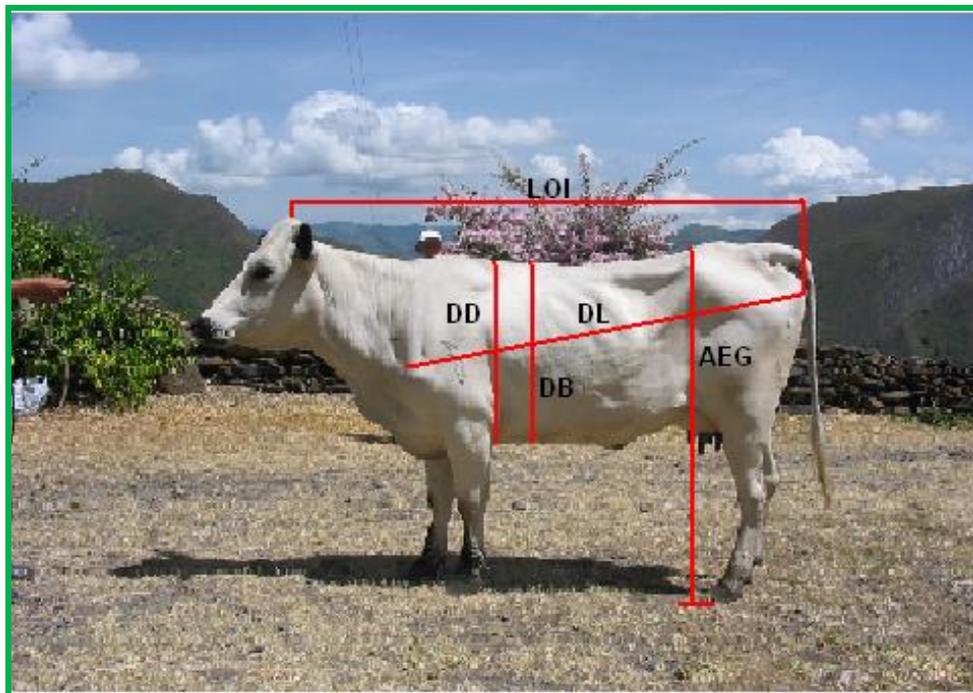


Figura 1. Algunas medidas bovinométricas: Longitud occisito- isquial (LOI), Diámetro dorso esternal (DD), Diámetro longitudinal (DL), Alzada a la entrada de la grupa (AEG), Diámetro bicostal (DB).

Por lo anterior se deduce que las vacas BON en este estudio, tienen mayor DD y por lo tanto mayor profundidad de pecho que las vacas Casanareñas y Caqueteñas reportadas. El DB (68.1 ± 4.09 cm) presenta una diferencia de 33 cm, con respecto a las encontradas en las vacas Casanareñas (34.47 ± 11.67) (Sastre, 2003), esta desigualdad debe estar relacionada con la variabilidad sobre el estado de carnes de los animales, así como de su capacidad reproductiva al momento del muestreo.

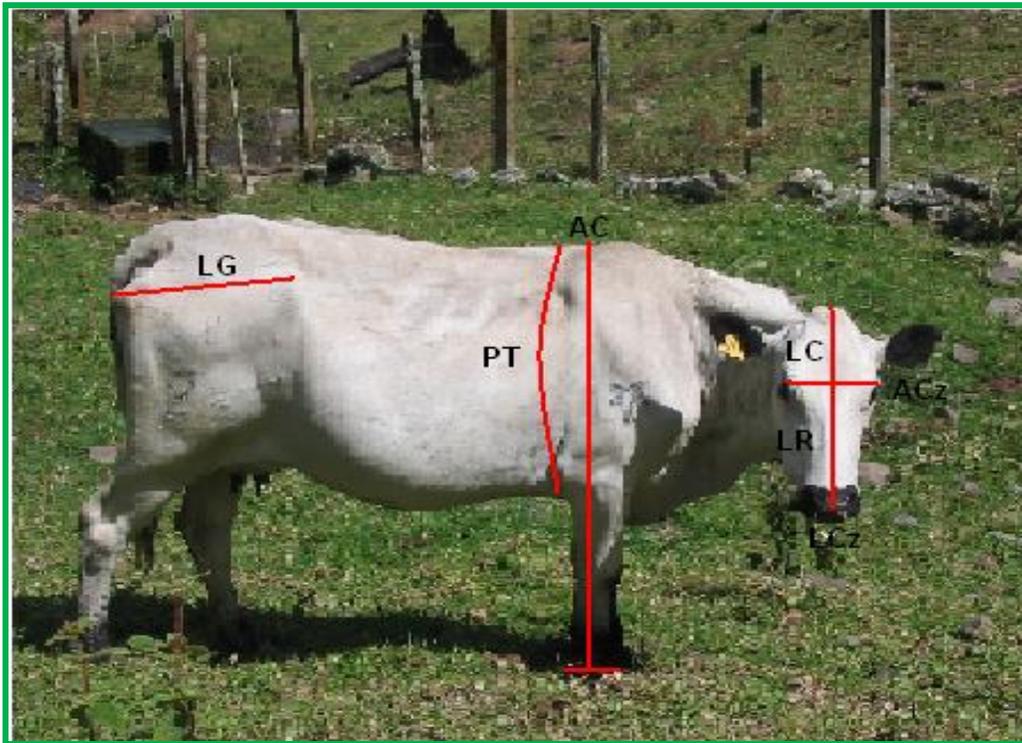


Figura 2. Algunas medidas bovinométricas: Longitud de grupa (LG), Perímetro tórax (PT), Alzada a la cruz (AC), Longitud de cráneo (LC), Longitud de cara (LR), Ancho de cabeza (ACz) y Longitud de cabeza (LCz).

2. Estudio de la armonicidad del modelo morfométrico:

El estudio se realizó según la metodología expuesta por Herrera *et al.*, (2003) realizando el análisis de correlaciones simples entre las 18 variables estudiadas, se observó (Tabla 2) que en el 88.23 % de los casos existe una correlación

significativa ($p < 0,05$) entre las diferentes variables. Según estos resultados, la raza BON, presenta un grado de armonicidad alto en su modelo morfoestructural, mayor que en otras razas criollas como la Casanareña que presentó 61.7% (Sastre, 2003) y Caqueteña 77,17% (Floriano y Trujillo, 2005) de correlaciones significativas.

Tabla 1. Valores medios, mínimos, máximos y desviación estándar de 18 medidas morfométricas tomadas en las hembras de raza Blanco Orejinegro (BON)

Grupo	Variable	Media	Mínimo	Máximo	Desv. Std
Peso (kg)	Peso	439.042	280.000	640.000	68.612
Alzadas (cm)	AC	122.765	114.000	133.000	4.243
	AEG	127.276	117.000	133.000	3.542
	LCz	50.000	44.000	55.000	2.449
	LR	30.957	23.000	36.000	2.653
	LC	19.212	15.000	24.000	1.693
	ACz	23.340	21.000	26.000	1.387
	DB	68.148	59.000	76.000	4.096
	Diámetros (cm)	DE	41.446	36.000	51.000
DD		67.723	61.000	75.000	3.173
AL		35.872	30.000	41.000	2.626
LOI		184.191	169.000	202.000	8.818
DL		147.936	127.000	164.000	8.181
All		11.127	8.000	14.000	1.596
AG		47.297	39.000	57.000	3.380
LG		51.085	44.000	58.000	3.315
Perímetros (cm)	AnC	49.127	39.000	57.000	4.025
	PT	175.212	152.000	199.000	8.936
	PC	16.595	14.000	19.000	0.876

Como se define en la literatura “una agrupación o raza en la que se encuentra que todas las variables están significativamente correlacionadas, es una raza que corresponde a un modelo armónico; medianamente armónico cuando el número de correlaciones significativas entre las diversas variables ronde el 50% y cuando solo están correlacionadas el 25% de las variables, se puede decir que tiene un modelo poco armónico”, (Martínez, 1995).

Tabla 2. Matriz de correlaciones de las 18 variables estudiadas en las hembras de raza Blanco Orejinegro (BON).

MATRIZ DE CORRELACIONES VALOR DE r con valores de p																		
	Acz	LCz	LR	LC	AC	DB	DE	DD	PT	PC	LOI	DL	AEG	AG	LG	AnC	All	AL
Acz	1	0,5565 p=.0001	0,4114 p=.0041	0,135 p=.3654	0,2501 p=.0900	0,6066 p=.0001	0,5277 p=.0001	0,5846 p=.0001	0,5796 p=.0001	0,5626 p=.0001	0,4103 p=.0042	0,3926 p=.0063	0,3253 p=.0256	0,6776 p=.0001	0,6173 p=.0001	0,5876 p=.0001	0,3627 p=.0122	0,567 p=.0001
LCz		1	0,806 p=.0001	0,1834 p=.2171	0,3157 p=.0306	0,5546 p=.0001	0,3575 p=.0136	0,5536 p=.0001	0,5044 p=.0003	0,3544 p=.0145	0,4709 p=.0008	0,5272 p=.0001	0,4383 p=.0021	0,5984 p=.0001	0,6611 p=.0001	0,4762 p=.0007	0,428 p=.0027	0,5779 p=.0001
LR			1	-0,2834 p=.0536	0,3118 p=.0329	0,3725 p=.0099	0,3118 p=.0328	0,316 p=.0305	0,3221 p=.0272	0,3103 p=.0338	0,3682 p=.0109	0,3353 p=.0212	0,3643 p=.0118	0,503 p=.0003	0,4847 p=.0006	0,3506 p=.0157	0,4426 p=.0018	0,4234 p=.0030
LC				1	-0,0262 p=.8612	0,1144 p=.4437	-0,0179 p=.9049	0,2175 p=.1419	0,165 p=.2676	0,0738 p=.6216	0,1369 p=.3585	0,1877 p=.2063	0,0262 p=.8611	0,038 p=.7995	0,1322 p=.3756	0,0852 p=.5689	-0,1469 p=.3242	0,0991 p=.5073
AC					1	0,581 p=.0001	0,5086 p=.0003	0,5696 p=.0001	0,6421 p=.0001	0,4884 p=.0005	0,5188 p=.0002	0,5693 p=.0001	0,7909 p=.0001	0,5776 p=.0001	0,6441 p=.0001	0,5808 p=.0001	0,4409 p=.0019	0,5044 p=.0003
DB						1	0,6511 p=.0001	0,9295 p=.0001	0,8927 p=.0001	0,5016 p=.0003	0,6334 p=.0001	0,6482 p=.0001	0,5782 p=.0001	0,6575 p=.0001	0,7129 p=.0001	0,7068 p=.0001	0,3726 p=.0099	0,7131 p=.0001
DE							1	0,6242 p=.0001	0,7183 p=.0001	0,4996 p=.0003	0,4419 p=.0019	0,4567 p=.0013	0,4219 p=.0031	0,6039 p=.0001	0,5779 p=.0001	0,6668 p=.0001	0,584 p=.0001	0,6248 p=.0001
DD								1	0,911 p=.0001	0,506 p=.0003	0,6939 p=.0001	0,6724 p=.0001	0,5965 p=.0001	0,652 p=.0001	0,7439 p=.0001	0,7583 p=.0001	0,3503 p=.0158	0,705 p=.0001
PT									1	0,5553 p=.0001	0,691 p=.0001	0,61 p=.0001	0,592 p=.0001	0,6971 p=.0001	0,7367 p=.0001	0,7172 p=.0001	0,4186 p=.0034	0,657 p=.0001
PC										1	0,4181 p=.0034	0,4451 p=.0017	0,583 p=.0001	0,5258 p=.0001	0,5059 p=.0003	0,4895 p=.0005	0,4417 p=.0019	0,44 p=.0020
LOI											1	0,6094 p=.0001	0,4881 p=.0005	0,644 p=.0001	0,6901 p=.0001	0,6999 p=.0001	0,4676 p=.0009	0,6516 p=.0001
DL												1	0,7626 p=.0001	0,5406 p=.0001	0,7503 p=.0001	0,7244 p=.0001	0,3451 p=.0175	0,6897 p=.0001
AEG													1	0,6263 p=.0001	0,7123 p=.0001	0,627 p=.0001	0,3971 p=.0057	0,595 p=.0001
AG														1	0,7404 p=.0001	0,6872 p=.0001	0,6291 p=.0001	0,7413 p=.0001
LG															1	0,843 p=.0001	0,5523 p=.0001	0,8302 p=.0001
AnC																1	0,5691 p=.0001	0,818 p=.0001
All																	1	0,6417 p=.0001
AL																		1

Variable	N° Correlaciones Significativas	Variable	N° Correlaciones Significativas
ACz	15	PC	16
LCz	16	LOI	16
LR	16	DL	16
LC	0	AEG	16
AC	15	AG	16
DB	16	LG	16
DE	16	AnC	16
DD	16	All	16
PT	16	AL	16

Realizando un análisis de cada uno de los valores de la matriz, se denota que la variable longitud de cráneo fue la única medida que no tuvo ninguna correlación significativa con el resto de las variables. Se observó, que la mayoría de medidas tomadas están positivamente correlacionadas entre sí, permitiendo deducir el

comportamiento de una variable al tener el conocimiento de una de estas variables correlacionadas en la Tabla 2, además en algún momento definen con mayor precisión la talla y funcionalidad del animal. Por ejemplo, la alzada a la cruz (AC), presentó un valor significativo de correlación ($p < 0,01$), con el perímetro del tórax y se sabe que este ha sido utilizado a través del uso de cintas métricas para determinar el peso corporal de un animal; es decir que, si se carece de la cinta métrica, se podría determinar el peso del animal por su alzada a la cruz.

3. Análisis de índices morfométricos:

Los índices morfométricos estudiados se clasificaron en índices raciales y en índices funcionales Índice Cefálico (ICE): anchura de la cabeza/longitud de cabeza. Índice Facial (IFA): anchura de la cara/longitud de cara. Índice Torácico (ITO): diámetro bicostal/diámetro dorso esternal. Índice Corporal (ICO): diámetro longitudinal/perímetro torácico. Índice de Proporcionalidad (IPR): alzada a la cruz/diámetro longitudinal. Índice Pelviano (IPE): anchura de la grupa/longitud de la grupa. Índice Metacarpo-Torácico (IMTOR): perímetro de la caña/perímetro torácico. Índice Metacarpo-Costal (IMCOS): perímetro de la caña/diámetro bicostal. Profundidad Relativa del Tórax (IPRT): diámetro dorso-esternal/alzada a la cruz. Índice Pelviano Transversal (IPETR): anchura de la grupa/alzada a la cruz. Índice Pelviano Longitudinal (IPELO): longitud de la grupa/alzada a la cruz. Peso relativo o Índice de Compacidad (PREL): peso corporal/alzada a la cruz. Carga de la caña (PRC): perímetro de la caña/peso corporal. Espesor relativo de la caña (IECÑA): perímetro de la caña/alzada a la cruz (Tabla 3).

Índice Cefálico (ICE): anchura de la cabeza/ longitud de cabeza. Índice Facial (IFA): anchura de la cara/longitud de cara. Índice Torácico (ITO): diámetro bicostal/diámetro dorso esternal. Índice Corporal (ICO): diámetro longitudinal/perímetro torácico. Índice de Proporcionalidad (IPR): alzada a la cruz/diámetro longitudinal. Índice Pelviano (IPE): anchura de la grupa/longitud de la grupa. Índice Metacarpo-Torácico (IMTOR): perímetro de la caña/perímetro

torácico. Índice Metacarpo-Costal (IMCOS): perímetro de la caña/diámetro bicostal. Profundidad Relativa del Tórax (IPRT): diámetro dorso-esternal/alzada a la cruz. Índice Pelviano Transversal (IPETR): anchura de la grupa/alzada a la cruz. Índice Pelviano Longitudinal (IPELO): longitud de la grupa/alzada a la cruz. Peso relativo o Índice de Compacidad (PREL): peso corporal/alzada a la cruz. Carga de la caña (PRC): perímetro de la caña/peso corporal. Espesor relativo de la caña (IECÑA): perímetro de la caña/alzada a la cruz.

Tabla 3. Valores medios, mínimos, máximos y desviación estándar del peso corporal y de los 14 índices morfométricos analizados en hembras BON

Variable (cm)	Media	Mínimo	Máximo	Desv. Std
PESO	439.042	280.000	640.000	68.612
ICE	46.720	41.180	54.550	2.474
IFA	75.829	61.760	100.000	6.651
ITO	100.587	95.160	105.8000	2.430
ICO	84.501	76.970	91.720	3.967
IPR	83.152	74.390	91.730	3.816
IPE	92.662	83.020	106.820	4.695
IMTOR	9.481	8.540	10.630	0.461
MICOS	24.401	21.920	27.870	1.394
IPRT	55.178	50.000	60.500	2.166
IPETR	38.516	33.880	43.090	2.267
IPELO	41.601	36.070	45.450	2.106
PREL	356.872	241.380	481.200	48.931
PRC	3.854	2.660	5.310	0.525
IECÑA	13.520	12.070	14.840	0.632

Índices raciales. (ICO): $84,5 \pm 3,9$ cm Indica que los animales muestreados son de troncos acortados, anchos y espesos en relación con sus capacidades torácicas, animales zootécnicamente definidos como *Brevilineos* (ITO): $100 \pm 2,4$ cm relaciona las medidas de diámetro bicostal con diámetro dorsoestrenal, nos

indica que son animales *ultrabrevilineos*. Este índice presenta variación, ya que su valor está afectado por el diámetro bicostal que es una medida que normalmente tiene gran variabilidad, teniendo en cuenta que depende del estado de carnes y reproductivo del animal al momento de tomar la medida. Las vacas BON exceden casi en el doble al ITO de las vacas CC el cual fue de $55,04 \pm 12,83$ cm., (Sastre, 2003), poniéndose en evidencia la amplitud de la cavidad torácica y por tanto pulmonar de las BON, característica adquirida como adaptación a las alturas de las zonas montañosas en las que se encuentran, diferente a las CC las cuales viven en zonas bajas.

Índices funcionales. (IMCOS): $24,4 \pm 1,3$ cm, indica mayor finura del esqueleto y mayor amplitud de la cavidad torácica; ya que a mayor diámetro bicostal, menor será el IMCOS. No se encontraron estudios en la revisión de literatura con otras razas criollas, para compararlos con los de este trabajo. (IPRT): $55,1 \pm 2,1$ cm. (IPE): $92,6 \pm 4,6$ cm. (PRC): $3,8 \pm 0,5$ cm. (IECÑA): $13,5 \pm 0,6$ cm. (IMTOR): $9,4 \pm 0,4$ cm, según Aparicio (1960), en vacas de aptitud láctea, el perímetro de la caña (16,5 cm.) debe estar comprendido diez veces en el perímetro torácico (175,2cm.); siendo, por tanto, el índice más favorable cuanto más se acerque a la cifra especificada como base. (IPETR): $38,5 \pm 2,2$ cm, relaciona la alzada a la cruz con el diámetro dorsoesternal, indica que son animales de gran amplitud de la cavidad torácica en comparación con sus extremidades acortadas, las cuales se consideran apropiadas para el desplazamiento de zonas montañosas y terrenos abruptos, además indica que son animales especializados en la producción de carne ya que el diámetro dorsoesternal (67,7) es superior a la mitad de la alzada a la cruz (61). (IPELO): $41,6 \pm 2,1$ cm. (PREL): $356,8 \pm 48,9$ cm. (IPR): $83,1 \pm 3,8$ cm (Aranguren, 2001).

Las anteriores medidas de la caja pélvica denotan una buena amplitud de caderas, buena proporcionalidad de los diámetros pélvicos con respecto a la conformación general, por lo que raras veces ocurran distocias en estos animales. Luego de analizar en general las variables; se observó, que algunas características tales

como profundidad, perímetro oblicuo del tórax, ancho del pecho, diámetro longitudinal, alzadas, dan a conocer que son animales rectangulares cilíndricos, característica propia de la línea cárnica (Pere-Miquel, 2007).

CONCLUSIONES

- El modelo morfoestructural del ganado Blanco Orejinegro (BON), en este estudio, demostró que la raza es armónica; indicando que existe, en el hato estudiado, un alto grado de homogeneidad que podría atribuirse al hecho de ser un hato cerrado a la influencia de poblaciones exógenas con otras tendencias genéticas.
- El desnivel entre las alturas de la cruz y anca o grupa, donde la primera es menor, y la fortaleza de sus extremidades anteriores, así como el valor de índice corporal y su interpretación de animales de troncos acortados, anchos y espesos, son indicativos claros de su adaptación a terrenos abruptos y aptitud para el trabajo y producción de carne.
- La talla del ganado BON, en este estudio, comparada con otras razas criollas como Hartón del Valle, Sanmartinero, Casanareño y Caqueteño es inferior en aproximadamente 10 cm, y ese menor tamaño y las características antes descritas son una corroboración adicional que su talla obedece a su adaptación a la zona abrupta de los Andes colombianos, en dónde animales de gran talla difícilmente se podrían desplazar.
- Los resultados de este estudio son una contribución a la caracterización de la raza BON y deben servir de base para realizar otros, que analicen las relaciones existentes entre las medidas e índices morfométricos con peso, características reproductivas y aptitudes productivas de carne, leche y trabajo de esta y otras razas.

RECOMENDACIONES

- Este trabajo puede servir como base para la realización de otros estudios y para la elaboración de programas de selección tendientes a corregir aquellas características que se consideren inapropiadas para el desarrollo futuro de las razas criollas.
- Este tipo de estudio debe complementarse con el registro sistemático de las características de importancia económica como la reproducción, crecimiento y producción de leche.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Aparicio, S. G. Exterior de los grandes animales domésticos, Morfología externa, Córdoba, (España), ed. Imprenta Moderna, p. 197-238. 1960.
2. Aranguren, F. J. Introducción general a la clasificación morfológica de los bovinos de carne con referencia a la raza pirenaica. Revista Federación Española de Asociaciones de Ganado Selecto (FEAGAS), No 19. Madrid (España). p 50-69. 2001.
3. Buitrago, F; Gutiérrez, I. D. Censo y caracterización de los sistemas de producción del ganado criollo y colombiano. Fondo Nacional del Ganado (FEDEGAN); German Martínez C (ed.), p 65-73. 1999.
4. Floriano, P. L.; Trujillo, Y. Caracterización faneróptica, morfológica y morfométrica del ganado criollo Caquetense. Tesis de grado, Universidad de la Amazonía. 2005.
5. Gómez, A. M. Influencia de tamaño en eficiencia reproductiva y productiva de vacas Brahman en el trópico. Universidad de la Salle. Facultad de Medicina Veterinaria. Bogotá D. C. 1998.
6. Herrera, M., Rodero, E., Gutiérrez, M. J., Peña, F., Y Rodero, J. M. Application of multifactorial discriminant analysis in the morphostructural differentiation of andalusian caprine breeds. Small Ruminant Research, p 39-47. 2003.
7. Husu K. J. El bienestar animal en la legislación de la unión europea y a escala internacional. En: Actas del seminario: La Institucionalización del bienestar animal, un requisito para su desarrollo normativo, científico y productivo, Santiago de Chile, 11-12 de noviembre de 2004.
8. López A., Saldarriaga O., Arango A., Rúgeles M., Ossa J, Zuluaga F., Olivera M., Bermúdez N., Bedoya G., Ossa J. Ganado Blanco Orejinegro (BON): Una alternativa para la producción. Rev Col Cienc Pec., 14: 2. 2001.
9. Martínez, C. G. El ganado criollo colombiano Blanco Orejinegro (BON). Animal Genetic Resources Information. UNEP FAO. (Roma) 9: 33-44. 1992.

10. Martinez, C. G. The Colombian cattle breed. Proceedings of the Third Global Conference on Conservation of Domestic Animal Genetic Resources. En: R.D. Crawford, E.E. Lister, y J.T. Buckley (Ed.). Rare Breed International. Kingston. Ontario, Canadá, p 161-166. 1995.
11. Martínez, C. G. Censo y caracterización de los sistemas de producción del ganado criollo y colombiano. En: Memorias. Censo y caracterización de los sistemas de producción del ganado criollo y colombiano. Bogotá, D.C. Colombia. p 13-64. 1999.
12. Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural (MADR). Situación de los recursos Zoogenéticos en Colombia. Bogotá D.C. 2003.
13. Pere-Miquel I. Índices de interés funcional en la raza bovina "Bruna Dels Pirineus" REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria, VIII: 6: 1-7. 2007.
14. Pinzón M. E. Historia de la ganadería bovina en Colombia. Banco Ganadero (Col.) 4 (1): 208. 1984.
15. S.A.S. SAS user's guide: Statistics. Statistical Analysis System. Inc., Cary, N. C. 1995.
16. Sastre, H. J. Ganado criollo Casanare, descripción etnológica y estrategias para su rescate y conservación. España; Departamento de producción animal universidad de Córdoba. 2003.
17. Sierra L. E.; Velásquez P. D. Parámetros reproductivos y algunas medidas bovinométricas del ganado criollo Sanmartinero en la granja Iracá (San Martín - Meta). Tesis de grado para optar el título de Médico Veterinario y Zootecnista. Universidad de Los Llanos. Villavicencio. 2000.
18. Vaca M. E. Análisis retrospectivo del comportamiento reproductivo y crecimiento predestete de un hato mixto de ganado criollo Sanmartinero y Cebú y sus cruces recíprocos. Trabajo de Grado en Zootecnia. Facultad de Ciencias Agropecuarias, Fundación Universitaria Agraria De Colombia UNIAGRARIA". Bogotá. 2002.
19. Valderrama M. Razas Criollas y colombianas puras. Memorias. Convenio 135-01. Asocriollo. 2003.
20. Warriss P. the transport of animals: a long way to go. The Veterinary Journal 168: 213-214, 2004.

Caracterización inmunológica del calostro en un sistema doble propósito y evaluación de cuatro métodos de conservación

Immunological characterization of colostrum in dual purpose system and evaluation of four methods of conservation

Hernández Toca Edith Elena¹; Olaya Beltrán Jorge Eliecer¹; Parra Arango Jorge Luis² y Martínez Suárez Manuel³

¹MVZ Unillanos; ²MV. MSc. Programa Regional Pecuario C.I. La Libertad CORPOICA y ³MV. Docente Unillanos

manuel.martinez@unillanos.edu.co

Recibido 20 de Enero 2014, Aceptado 11 de Abril 2014

RESUMEN

El presente trabajo, hace parte del proyecto de Optimización de la Producción de Carne del Sistema Doble Propósito en los llanos orientales, zona tropical de Colombia, el objetivo fue contribuir en el aprovechamiento del calostro, determinando su calidad inmunológica, en hembras bovinas del sistema de producción doble propósito en un predio del Piedemonte Llanero y establecer el mejor método de conservación para uso estratégico en las primeras horas de vida del ternero. Para esto se realizó una cuantificación diferenciada de concentraciones de inmunoglobulinas (Ig) en calostros hasta 10 horas post-parto para establecer el grado de asociación ente las variables físicas, químicas e inmunológicas en calostro. Asimismo, se evaluaron cuatro métodos de conservación de calostro para ser utilizado en las fincas. La concentración Media de Ig totales fue 6.923 mg/dL. Los valores promedio para cada clase de Ig fueron: IgG: 5882 mg/dL. IgG₁: 5544 mg/dL. IgG₂: 338 mg/dL. IgM: 670 mg/dL. Ig A: 370 mg/dL. La densidad media fue 1.057 mg/ml, materia seca 23.8 g/100 g de calostro y proteína 13.3 g/100 g de calostro. El promedio general para gamma glutamil transferasa (GGT) y grasa fue de 730 UI/L de suero de calostro y 3.78 g/100 g de calostro respectivamente. Estas dos variables presentaron los coeficientes de

variación más altos. El pH medio fue 5.95, la media para cenizas fue 1.48 g/100 g de calostro y para Absorbancia fue 1.07%. Se encontró una correlación positiva ($P < 0.01$) de densidad con concentración de Ig totales, IgG2, materia seca, proteína total, cenizas y GGT. De igual manera materia seca esta correlacionada con proteína total y GGT ($P < 0.01$) y ésta a su vez con cenizas ($P < 0.01$) pero al realizar la función de dependencia el modelo no ajusto. Sin embargo, es preciso realizar estudios adicionales similares para establecer modelos, puesto que en estudios internacionales han reportado un valor más alto en la función de dependencia por lo menos en el caso de la concentración de Ig totales en función de la densidad del calostro. Los calostros colectados de los dos predios para este estudio demostraron un valor inmunológico de 6923 mg/dL, valor que se encuentra dentro de los reportados en diferentes estudios en lechería especializada de zonas templadas.

Palabras clave: Calostro, inmunoglobulinas, ganadería doble propósito.

ABSTRACT

This work is part of project Production Optimization System beef and dairy cattle, in the eastern plains tropical zone of Colombia, the aim was to contribute to the use of colostrum, determining their immune quality in bovine females dual-purpose production in an area of the Llanos Foothills and establish the best method of preservation for strategic use in the first hours of life of the calf. For this differentiated quantification of immunoglobulin (Ig) concentrations in colostrum was performed up to 10 hours postpartum to establish the degree of association being the physical, chemical and immunological variables in colostrum. Four methods of preservation of colostrum for use on farms were also evaluated. The concentration of total Ig Media was 6,923 mg/dL. The average values for each class of Ig were IgG: 5882 mg/dL. IgG₁: 5544 mg/dL. IgG₂: 338 mg/dL. IgM 670 mg/dL. IgA: 370 mg/dL. The average density was 1.057 mg/ml, 23.8 g/100 g dry matter and protein colostrum 13.3 g/100 g colostrum. The overall average for gamma glutmyl

transferase (GGT) and milk fat was 730 IU/L of serum of colostrum and 3.78 g/100 g colostrum, respectively. These two variables had coefficients of variation higher. The average pH was 5.95, the average ash was 1.48 g/100 g of colostrum and Absorbance was 1.07%. A positive correlation ($P < 0.01$) was found with density concentration of total Ig, IgG₂, dry matter, total protein, ash, and GGT. Similarly dry matter is correlated with total protein and GGT ($P < 0.01$) and total protein with ash ($P < 0.01$) but to perform the function of the model is not adjusted dependence. However, it must perform additional similar studies since adjusting said international studies have reported a higher value in the dependency function at least in the case of the concentration of total Ig as a function of the density of the colostrum. The colostrum collected from two farms in this study demonstrated an immunological value of 6923 mg/dL, a value that is within those reported by other studies in temperate dairy specialist.

Keywords: Colostrum, immunoglobulins, beef and dairy cattle.

INTRODUCCIÓN

En las empresas ganaderas del sistema doble propósito del Piedemonte Llanero, el ternero representa una parte fundamental en la cadena de producción, ya que al destetar animales sanos y con buen peso corporal, se garantiza posteriormente, hembras de reemplazo aptas para la reproducción y machos con buena calidad para el mercado. Además, el ternero determina en gran parte la longitud de la lactancia, considerando que si la cría muere, la vaca interrumpe su lactancia (Flórez, 1998 y Lakritz *et al.*, 2000).

Los terneros que presentan enfermedades el primer mes de vida, no se recuperan completamente y al destete, presentan menor peso que los animales sanos, además tienen un mayor riesgo de enfermedad o muerte, lo que trae pérdidas económicas para la empresa ganadera (Escobar y Bonilla, 1997; Pérez *et al.* 1990; Sivula, 1996; Virtala, 1996; Wattiaux, 2001). Los terneros que presentan enfermedad clínica o subclínica son menos eficientes en la ganancia de peso y

más susceptibles a morir, en épocas de escasez de alimento y condiciones ambientales adversas. El deceso del ternero en el primer mes refleja una baja natalidad en los hatos doble propósito, lo que agudiza aún más la problemática, incidiendo directamente en los costos de producción y la rentabilidad de la actividad ganadera (Flórez, 2000).

El ternero nace sin inmunoglobulinas (Ig), las cuales se adquieren a través del consumo de calostro en las primeras horas de vida después del nacimiento, que lo protegen contra patógenos causantes de enfermedad. Cuando el ternero no consume oportunamente una cantidad suficiente de Ig disminuyen las probabilidades de supervivencia, fenómeno conocido como Falla en la Transferencia de Inmunidad Pasiva (FTIP) que está correlacionado positivamente con las tasas de morbi-mortalidad (Parra, 2003).

La placenta bovina no permite el paso de las Ig de la madre al ternero, de modo que deben ser transferidas por medio del calostro y absorbidas por el intestino del ternero. El calostro, contiene las Ig necesarias que le confieren inmunidad a los terneros contra los agentes infecciosos predominantes en su ambiente. El tiempo de ingestión y absorción de Ig calostrales es crítica para la supervivencia del ternero neonato. Martínez *et al.*, (2000) determinaron que los terneros que consumieron su primer calostro después de dos horas del parto presentaron 8.24 veces mayor riesgo de enfermar que los terneros que lo consumieron antes de dos horas.

Es necesario tener en cuenta, que a partir del parto la composición del calostro comienza a cambiar gradualmente, pareciéndose cada vez más a la leche, lo que disminuye rápidamente, la concentración de Ig. Existe un “cierre” fisiológico progresivo del mecanismo de absorción de las Ig, por lo cual el intestino del neonato pierde su capacidad de permeabilidad a las grandes moléculas, siendo casi nula a las 24 horas. En la primera hora de edad, se aprovecha el doble de

cantidad de Ig comparada con las que se absorben a las nueve horas de edad (Perino, *et al.*, 1995; Quigley, 2000).

El amamantamiento es el método natural de suministrar calostro al ternero. Sin embargo, algunos factores pueden interferir con la ingestión de un adecuado volumen, entre los más importantes están las distocias, terneros débiles con incapacidad física para alcanzar la glándula mamaria, agresividad de la vaca hacia su cría, vacas de primer parto que por su falta de experiencia no son buenas madres, en términos de estimular a la cría a que alcance la glándula mamaria, ya que el grado de habilidad materna se correlaciona positivamente con los niveles séricos de Ig (Perino, 1997).

En Colombia en sistemas de producción bovina de cría, al menos el 10% de los terneros mueren antes del año de edad, siendo la mortalidad mayor en terneros menores de dos meses y es en la edad neonatal donde la morbi-mortalidad alcanza una tasa del 31.2% en explotaciones de la Altillanura Colombiana (López *et al.*, 1998) y 37.54% en sistemas de cría y doble propósito del Piedemonte del Meta y Casanare (Gómez, 1999).

En el Piedemonte Llanero, los problemas de salud mas prevalentes en terneros son: las diarreas (62.7%), las masas umbilicales (9.3%), enflaquecimiento progresivo (7.9%) y los nacidos débiles (7.8%); El porcentaje de morbilidad general es del 41% y de letalidad del 7.6% (Parra, 2003). La mortalidad, según estudios de monitoreo en sistemas de producción de cría, demuestra que en el Piedemonte Llanero esta cercana al 15% (Flórez, 2000). Una manera de contribuir en la prevención de las enfermedades antes mencionadas, es la adecuada ingestión de un buen calostro por parte del ternero al nacimiento.

Esta situación demuestra la magnitud del problema que surge de no realizar una atención oportuna al ternero recién nacido y a los animales enfermos, y de llevar a cabo mejores prácticas de manejo que pueden disminuir las tasas actuales de mortalidad por debajo del 5%. En Colombia la Falla en la Transferencia de

Inmunidad Pasiva (FTIP) en terneros del sistema doble propósito se estima entre 14.8% y 19.6% (Aricada *et al.*, 2004). También se ha demostrado que los terneros con FTIP presentan nueve veces más probabilidad de enfermarse y hasta 25 veces más probabilidades de morir, que los animales sin FTIP (López *et al.*, 1998); además, los terneros que no consumen calostro en cantidad adecuada muestran bajas tasas de crecimiento y baja ganancia de peso al destete (Robinsón *et al.*, 1998), en las hembras, menor producción de leche en su primera lactancia, además requieren un mayor tiempo para llegar a la etapa reproductiva y aumento en las tasas de descarte. Se ha observado que, si se identifican los terneros con FTIP, las pérdidas económicas por tratamientos médicos y mortalidad disminuyen en forma considerable (Castro y Elizondo, 2012).

Es claro que existe una relación directa entre los bajos niveles de Ig séricas alta morbi-mortalidad en terneros, y demás factores que intervienen con la adecuada ingestión de calostro como alteraciones anatómicas de la glándula mamaria, casos de mastitis severa, o inclusive cuando la madre no le proporciona a su cría un calostro de buena calidad. Para prevenir, que dichos eventos interfieran con un normal y eficiente proceso de inmunización natural, se hace necesario disponer de una fuente de calostro de alta calidad para ser suministrada de forma artificial en la cantidad suficiente durante las primeras horas de vida. Así mismo evaluar diferentes métodos de conservación para determinar con cada uno, el tiempo máximo al cual logran mantener las propiedades funcionales del calostro (García, *et al.*, 2006).

Al mejorar los niveles de Ig en los terneros neoantos es posible que el sistema de producción doble propósito mejore la producción de carne y leche con el fin de abastecer el mercado regional principalmente, buscando mejorar la competitividad en la cadena productiva, adoptando alternativas tecnológicas viables, con el fin de generar un mayor beneficio económico, incrementando la rentabilidad, la calidad y la eficiencia.

METODOLOGÍA

Los análisis de laboratorio fueron realizados en el Laboratorio de Salud animal del Centro de Investigaciones CORPOICA “La Libertad”. El trabajo de campo se desarrolló en un predio del Piedemonte Llanero bajo el Sistema Doble Propósito, en el Municipio de Castilla la Nueva, Departamento del Meta, Colombia, que en promedio ordeña 160 vacas mensuales y provee adecuada cantidad de hembras paridas durante el año para recolectar calostro. La altura es de 300-325 m.s.n.m., la temperatura media anual oscila entre 26.2 y 27°C, la precipitación anual promedio es 2.891,2 mm., la humedad relativa es del 78% y un brillo solar de 1.713,4 (horas/año) (IDEAM, 2004).

La investigación se desarrolló en tres fases, la primera fue la determinación de IgA, IgM e IgG₂; gamma glutamyl transferasa (GGT) y absorbancia a 72 muestras de calostro desengrasado existentes en el banco de calostro de CORPOICA; la segunda, con la información parcial de las variables (densidad, pH, materia seca, proteína, grasa y cenizas) de los mismos 72 calostros almacenados, fue realizado análisis estadístico y se compararon con los valores obtenidos en la determinación de IgA, IgM e IgG₂; GGT y Absorbancia; y la tercera fue la evaluación de cuatro métodos de conservación de calostro en finca, en la Tabla 1 se presentan las tres fases de las actividades de investigación.

En el laboratorio de Salud Animal “La Libertad”, se encontraban almacenados 72 alícuotas de calostro desengrasados y deshidratados, colectados de dos predios. El primer predio fue el mismo donde se colectaron los calostros para la evaluación de cuatro métodos de conservación y el segundo está ubicado en el municipio de Fuente de Oro en el Piedemonte del Meta; estos calostros provienen de vacas doble propósito, tomados en las primeras 10 horas post-parto, de diferentes animales, número de parto y razas, los últimos dos aspectos no se pudieron establecer debido al irregular manejo de los registros de las dos fincas provocado

por el cambio del personal encargado del manejo de los animales y el nivel de escolaridad de los mismos.

Tabla 1. Fases de investigación para evaluar el calostro de vacas doble propósito y cuatro métodos de conservación

FASE I Trabajo en Laboratorio	Banco de calostro CORPOICA (72 muestras)	Alícuotas Desengrasadas	Alícuotas Deshidratadas	<ul style="list-style-type: none"> • Determinación de IgA, IgM e IgG₂. • Determinación de GGT. • Absorbancia.
	Colección de 43 muestras de calostro	Determinación de:	<ul style="list-style-type: none"> • Densidad y Materia seca 	Determinación de proteína a 25 alícuotas de las 72.
FASE II Trabajo en Campo.	Evaluación de 4 métodos de conservación de calostro	<ul style="list-style-type: none"> • Fresco • Acidificado • Refrigerado • Congelado 	Valores determinados parcialmente:	<ul style="list-style-type: none"> • Densidad. • Materia seca. • Proteína. • Grasa. • Cenizas. • pH.
	FASE III Trabajo Estadístico.	Banco de Calostro Corpoica (72 muestras)	Adición de nuevos valores.	<ul style="list-style-type: none"> • Densidad. • Materia seca. • Proteína.
Evaluación de 4 métodos de conservación.				

Previo al inicio del trabajo a las 72 muestras de calostros, se les realizó pruebas físicas y químicas encontrando la información consignada en la Tabla 2. Para poder utilizar estas variables, en la investigación fue necesario recolectar 43 muestras del mismo predio donde se evaluaron los cuatro métodos de conservación; determinándoles densidad y materia seca; simultáneamente se

tomaron de las 72 alícuotas de calostro deshidratado 25 a las cuales no se les había determinado proteína y se les realizó el análisis.

Tabla 2. Resumen de valores, información y alícuotas encontradas al inicio de la investigación

Prueba	Método	Nº de muestras valoradas	Estado de las Alícuotas y método para su obtención en laboratorio	
			Alícuotas Desengrasadas	Alícuotas Deshidratadas
Densidad (mg/ml) a 15°C	Lactodensímetro	70	Alícuotas Desengrasadas	Alícuotas Deshidratadas
Materia seca (%)	Desecación por calor (55°C/48 horas)	72		
pH	Potenciómetro digital	70	Ultracentrifugación refrigerada	55 °C por 48 horas
Cenizas (%)	Mufla	31		
Proteína (%)	Microkjendal	32		
Grasa (%)	Soxhlet.	39		

Con estos nuevos valores se hizo un análisis de varianza entre los valores existentes y los obtenidos de densidad, materia seca y proteína, esto con el fin de establecer el efecto del tiempo en la determinación de las variables y de esta forma se tomó la información como un todo, se le corrió estadística descriptiva, y se aprovechó para correlacionarla con las concentraciones de Ig, GGT y absorbancia. A las 72 alícuotas de calostro desengrasado se les realizó cuantificación de IgA, IgM e IgG₂ por medio del método de Inmunodifusión Radial Simple, determinación de GGT utilizando el método cinético colorimétrico y absorbancia cuyo instrumento de medida fue el espectrofotómetro a una longitud de onda de 630 nm.

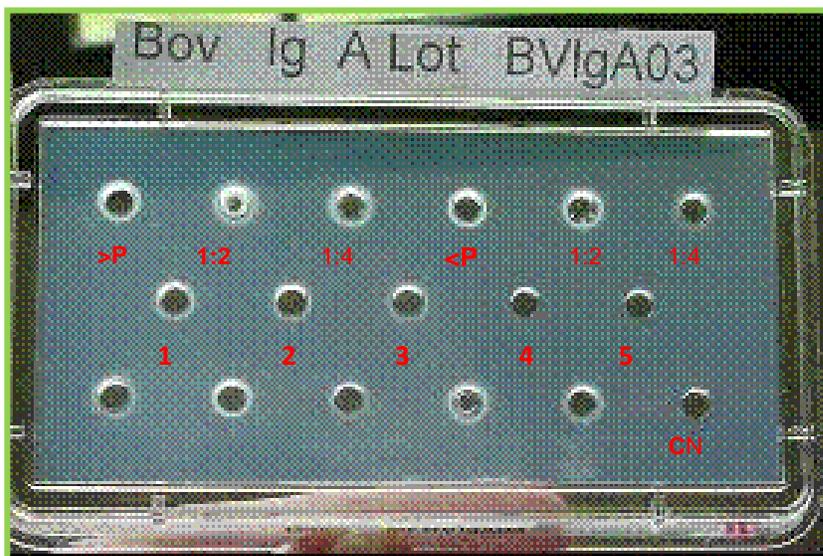
Determinación de IgA, IgM, IgG

Para la cuantificación de la concentración de Ig se utilizaron kits comerciales de ICN® para cada Ig, basados en Inmunodifusión Radial Simple. El kit para la

determinación de IgA contiene tres concentraciones conocidas de IgA (400, 250, 150 mg/dL). Para determinar la curva patrón de calibración, teniendo en cuenta la completa difusión de la reacción manifestada en el crecimiento del halo se diluyeron las concentraciones conocidas de IgA en (400, 200, 250, 150 y 75 mg/dL). El fabricante recomienda que para diluir los calibradores o las muestras se debe utilizar solución salina al 0.9%. Del total de muestras del banco de calostro se seleccionaron dos, una con alta concentración de proteína (21%) y la segunda con baja concentración de proteína (9.56%) y cada una se diluyó 1:2 y 1:4 respectivamente, de tal forma que para la prueba de estandarización se utilizaron tres alícuotas de cada muestra. (1:1, 1:2 y 1:4); éstas se diluyeron con el fin de establecer el crecimiento de los halos con respecto al de los calibradores. En la placa se depositaron las 5 concentraciones conocidas de IgA y las 6 alícuotas de calostro que se determinaron a partir de las 2 muestras del banco de calostro. Los halos formados por la unión de Ig y anti-Ig dejaron de crecer a las 40 horas, por tal motivo este fue el tiempo de lectura. El crecimiento de los halos de las concentraciones 200 y 250 mg/dL fue similar, por tal razón solo se dejaron las concentraciones (400, 250, 150 y 75 mg/dL). El crecimiento de los halos de las diluciones de calostro (1:1, 1:2 y 1:4) fue similar, razón por la cual se decidió trabajar con el calostro desengrasado sin dilución (1:1) (Figura 1). El diámetro de los halos fue medido con un nonio (Somet 1/20 mm).

El kit para la determinación de IgM contiene 4 concentraciones conocidas de IgM (520, 260, 130 y 60 mg/dL). De forma similar a la IgA se determinó la curva patrón de calibración; se utilizaron las mismas muestras de calostro con sus características y diluciones (1:1, 1:2 y 1:4), se diluyó la última concentración conocida de IgM (520, 260, 130, 60 y 30 mg/dL). El halo formado por la alícuota del calostro desengrasado entero (1:1) tanto de la muestra con alta concentración de proteína y la muestra con baja concentración de proteína, fue indeterminado y de difícil medición; fue necesario diluir las muestras de calostro en (1:2) y la lectura se hizo a las 46 horas post inicio de la prueba (Figura 2).

El kit ICN Biomedicals® para la cuantificación de IgG, incluye el valor de la proporción de IgG₁ e IgG₂ en IgG total, donde $IgG = IgG_1 + IgG_2$. El contenido de IgG₂ e IgG₁ en IgG es de 5.74% y 96.24% respectivamente bajo este criterio se determinó IgG₁ e IgG total (ICN Biomedicals®). Para la estimación de la curva patrón de calibración se realizó de forma similar a la de IgA e IgM, las concentraciones conocidas de IgG₂ fueron de (120, 60, 30 y 15 mg/dL) y se realizó dilución a la última concentración (120, 60, 30, 15 y 7.5 mg/dL). El crecimiento de los halos en la alícuota del calostro entero desengrasado fue desmedido, con lo cual se determinó diluir las muestras en (1:2) y el tiempo de lectura fue de 24 horas pos inicio de la prueba, y se suprime la última dilución de la concentración conocida de IgG₂, debido a que el crecimiento del halo fue similar entre 15 y 7.5 mg/dL. (Figura 3).



>P: Mayor proteína (21%)

<P: Menor proteína 9.5%

1: 2 y 1:4 Diluciones

1: 400 mg/dL

2: 250 mg/dL

3: 150 mg/dL

4: 75 mg/dL

CN: Control Negativo
(Solución salina 0.9%)

Figura 1. Inmunodifusión Radial Simple de muestras de calostro desengrasado para la determinación de IgA.

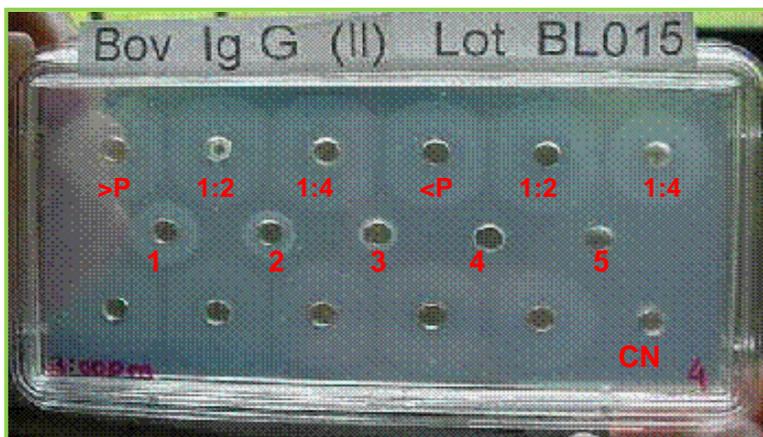
Para medir absorbancia se utilizó un espectrofotómetro marca DYNEX® Labsystems modelo MRX II. Fue necesario realizar varias lecturas con diferentes longitudes de onda, para determinar cuál de ellas proporcionaba una mejor lectura. Se eligió la longitud de onda de 630 nm. Para la medición de absorbancia

en la placa para espectrofotómetro se adicionaron dos alícuotas de 100 µl de agua destilada (blanco) y cada una de las 72 muestras de calostro desengrasado (100 µl por pozo).



>P: Mayor proteína (21%)
 <P: Menor proteína 9.5%
 1:2 y 1:4 Diluciones
 1: 520 mg/dL
 2: 260 mg/dL
 3: 130 mg/dL
 4: 60 mg/dL
 5: 30 mg/dL
 CN: Control Negativo
 (Solución salina 0.9%)

Figura 2. Inmunodifusión Radial Simple de muestras de calostro desengrasado para la determinación de IgM.



>P: Mayor proteína (21%)
 <P: Menor proteína 9.5%
 1:2 y 1:4 Diluciones
 1: 120 mg/dL
 2: 60 mg/dL
 3: 30 mg/dL
 4: 15 mg/dL
 5: 7.5 mg/dL
 CN: Control Negativo
 (Solución salina 0.9%)

Figura 3. Inmunodifusión Radial Simple de muestras de calostro desengrasado para la determinación de IgG2.

Para determinar GGT, en una placa de fondo plano para espectrofotómetro se colocaron en dos pozos muestras de agua destilada (blanco), una muestra de reactivo control (suero bovino normal), incluida en el kit y en cada uno de los pozos restantes 200 µl de una solución combinada de sustrato-buffer y se

adicionaron 20 μ l de cada muestra de calostro desengrasado. En el espectrofotómetro (DYNEX MRX[®] a una longitud de onda de 405 nm) se realizó una primera lectura que se tomó como tiempo inicial o tiempo 0 y a partir de esta medición una segunda lectura a los 60 segundos, otra a los 120 segundos y una última lectura a los 180 segundos y con los datos obtenidos se calcularon los resultados.

Con el propósito de disminuir la cantidad requerida de calostro ya que con el lactodensímetro es necesario un volumen de 250 ml, se determinó la densidad en relación peso sobre volumen mediante el picnómetro de 50 ml. Para ajustar la curva patrón de regresión del picnómetro en función del lactodensímetro, se utilizaron los valores de densidad de los 43 calostros colectados y adicionados al banco de calostro. En la determinación de densidad se utilizó el lactodensímetro marca Cole-Parmer instrumen Co (1020 - 1100 SP. G. 60 °F). Densidad ajustada 15/15: Lectura de densidad: +0.2 por °C (T° del calostro es mayor a 15°C). Lectura de densidad: -0.2 por °C (T° del calostro es menor a 15°C).

En la valoración de densidad con el picnómetro, se pesó el picnómetro vacío (P1), inmediatamente y teniendo el calostro a 15°C se colocó dentro de este, pesándolo nuevamente (P2), la densidad se calculó restando P2 de P1 y el resultado se dividió en 50 el cual es el volumen (ml) del calostro dentro del picnómetro (Figura 4).

Para el análisis de los métodos de conservación de calostro, se tomaron muestras de calostro de 4 vacas entre tres y cinco partos, que permanecieron durante el período de gestación en el predio, (que no presentaron retención de placenta, distocia, mastitis), las cuales se tomaron después de que el ternero consumiera suficiente cantidad de calostro. Lo anterior se realizó en las primeras 10 horas posparto. Las muestras se transportaron refrigeradas (dependiendo del método de conservación) al laboratorio de salud animal "La Libertad". Se evaluaron 4 métodos de conservación de calostro, a saber: almacenado a temperatura

ambiente (25°C), almacenado a temperatura ambiente (25°C) con adición de ácido propiónico con una concentración final de 0.5%, refrigerado (8°C) y congelado (-20°C). Para los tratamientos de conservación se requirió de un volumen total de 1.620 ml por vaca.



Figura 4. Picnómetro utilizado para la determinación de densidad (peso/volumen) en los calostros

Almacenado a temperatura ambiente (25°C). De cada calostro se tomaron 480 ml que se fraccionaron en ocho alícuotas, almacenadas cada una en frascos plásticos de 60 ml, herméticamente tapados y alojados en un lugar protegido de la luz solar, a los cuales se les determino proteína, pH, densidad y materia seca, a las 2, 3, 4, 5, 6, 8 y 10 horas a partir de la recolección.

Almacenado a temperatura ambiente (25°C) con adición de ácido propiónico al 0.5%. Del calostro de cada vaca se tomaron 300 ml a los cuales se les adicionó 1.5 ml de ácido propiónico (concentración final 0.5%) (Flórez, 2000), y se fraccionaron en cinco alícuotas almacenadas cada una en frascos plásticos de 60

ml, herméticamente tapados y alojados en un lugar protegido de la luz solar, a las cuales se les determinó proteína, pH, densidad y materia seca, a las 2, 4, 8, 12, 24 y 36 horas, a partir de la recolección.

Calostro refrigerado. De cada calostro se tomaron 480 ml, que se fraccionaron en ocho alícuotas almacenadas cada una en frascos plásticos de 60 ml, herméticamente tapados y alojados en el interior de la nevera comercial a una temperatura de 8°C, a las cuales se les determinó proteína, pH, densidad y materia seca, a las 2, 12, 24, 48, 72, 96, 120, 144 y 168 horas, a partir de la recolección. Se evaluó a 8°C para simular la temperatura de las neveras en finca.

Calostro congelado. De cada calostro se tomaron 360 ml, que se fraccionaron en seis alícuotas de 60 ml, a las cuales se les determinó proteína, pH, densidad y materia seca a los 1, 6, 12, 18, 24, y 30 días, a partir de la recolección. La temperatura requerida fue de -20°C, cada alícuota fue almacenada en frasco plástico herméticamente cerrado. El equipo utilizado para mantener esta temperatura fue un congelador comercial con formación de escarcha que mantiene las paredes cubiertas por una capa de hielo.

A cada alícuota se le midieron las siguientes variables: Proteína Cruda, se determinó por el método de MicroKjendahl, (AOAC, 2006). En la medición de la densidad, se utilizó el picnómetro, a partir de la curva patrón de regresión ajustada del picnómetro en función del lactodensímetro. pH, para esta medición se usó un potenciómetro digital (Sentron 0-14+/- 0.01), modelo PS-15. Para determinar la materia seca se pesaron 30 ml de calostro en una balanza electrónica (Mettler PC 220 DeltaRange® Mettler Instrument AG Switzerland) utilizando una caja Petri de vidrio y se llevaron a una estufa (Gallenkamp hot box oven SG97/11/369 UK, termostato de 0 a 250°C), para ser deshidratado por calor, durante 48 horas a una temperatura de 55°C, cumplido este tiempo se peso nuevamente y se determinó el porcentaje de materia seca por medio de la siguiente fórmula:

$$\%MS = \frac{PCD (g) X100}{PCND}$$

Ms = Materia seca, PCD = Peso calostro desecado en gramos, PCND = Peso calostro no desecado en gramos

Métodos estadísticos

Cuantificación de Ig. Curva Patrón de Ig. Se realizó la curva patrón para intrapolar las concentraciones de IgA, IgM e IgG con respecto al halo para el kit de ICN® para Ig. Para esto se efectuaron unas regresiones donde la variable dependiente fue el diámetro del halo y la variable independiente los patrones de concentraciones de Ig para cada Kit.

Análisis de varianza. Se efectuaron unos análisis de varianza de las variables (densidad, materia seca y proteína) existentes en el banco de calostro Corpoica (72) con los valores obtenidos de los 43 calostros de las variables (densidad y materia seca) y proteína de las 25 alícuotas de calostro deshidratado, faltantes a las 72 muestras del Banco de calostro de CORPOICA.

Estadística descriptiva. Se determinó Media, Mediana, Desviación Estándar, Error estándar, Coeficiente de Variación, Mínimo, Máximo y Cuartiles, para densidad, absorbancia, pH, materia seca, cenizas, grasa, proteína, GGT, IgG, IgG₁, IgG₂, IgM, IgA, Ig totales.

Análisis de regresión y correlación. Se hizo correlación bivariada de Pearson, para determinar el grado de asociación entre las siguientes variables: materia seca, densidad, proteína cruda, grasa, cenizas, pH, absorbancia, GGT, IgG, IgA e IgM. Cuando las variables químicas, físicas e inmunológicas, mostraron correlación significativa, se efectuó regresión lineal simple o múltiple. Se aplicó la metodología de Fleener y Stott, (1980) quienes basaron su investigación en 29 muestras de calostro de vacas lecheras y demostraron que el contenido de Ig es responsable por el 69.9% de la variación de la densidad del calostro ($R^2 = 0.669$).

También se aplicaron en esta investigación los estudios realizados por Quigley, 2000; Hernández y Olaya, 2004, donde indican que existen ecuaciones para predecir la calidad inmunológica del calostro basándose en la densidad, las cuales son:

$Y = 254.7$ (densidad) - 261.5, midiendo la cantidad total de globulinas.

$Y = 1180$ (densidad) - 1172, midiendo la cantidad total de Ig a 37°C

$Y = 958$ (densidad) - 969, midiendo la cantidad total de IgG a 20°C

$Y = 39.413$ (densidad) - 34772.5 midiendo la cantidad total de Ig a 15°C

Métodos de conservación. Para cada uno de los 4 métodos de conservación se hizo un análisis estadístico de varianza independiente, utilizando un diseño al azar donde las unidades experimentales fueron los tratamientos de conservación y los tiempos de lectura.

$$Y_{ij} = \mu + T_i + E_j$$

μ : Promedio General.

T_i : Tiempo de Conservación del Calostro.

E_j : Error experimental.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

No se encontraron diferencias entre las variables densidad, materia seca y proteína, entre los valores existentes en el banco de calostro de CORPOICA y los colectados durante el estudio ($P > 0.05$), por tal motivo se utilizaron para ser correlacionadas con las variables determinadas en el presente estudio: IgG, IgG₁, IgG₂, IgA, IgM, GGT y absorbancia (Tabla 2).

Características físicas, químicas e inmunológicas del calostro

La concentración media de Ig totales fue 6.923 mg/dL. Los valores promedio para cada clase de Ig fueron: IgG: 5882 mg/dL. IgG₁: 5544 mg/dL. IgG₂: 338 mg/dL. IgM: 670 mg/dL. Ig A: 370 mg/dL.

Tabla 2. Análisis de varianza de la proteína, densidad y materia seca en muestras de calostros deshidratados existentes en el Banco de calostro de CORPOICA

Fuente de Variación	gl*	Cuadrado Medio	F	Probabilidad	Promedio
PROTEÍNA					
Banco Calostro	1	0.6756			13.2239
Realizadas por los autores	55	6.2832	0.1075	0.7442	13.4433
Total	56				
DENSIDAD					
Banco Calostro	1	46.614			1057.52
Realizadas por los autores	111	158.818	0.2935	0.589	1056.20
Total	112				
MATRIA SECA					
Banco Calostro	1	0.03157			20.7940
Realizadas por los autores	113	14.1831	0.0022	0.9624	20.7595
Total	114				

La densidad media fue 1.057 mg/ml, materia seca 23.8 g/100 g de calostro y proteína 13.3 g/100 g de calostro. El promedio general para GGT y grasa fue de 730 UI/L de suero de calostro y 3.78 g/100 g de calostro respectivamente. Estas dos variables presentaron los coeficientes de variación más altos. El pH medio fue 5.95, la media para cenizas fue 1.48 g/100 g de calostro y para absorbancia fue 1.07%.

Existen factores importantes que influyen en el análisis de los resultados obtenidos en cuanto a propiedades físicas, químicas e inmunológicas, entre los cuales están:

1. Debido al deficiente uso de los registros en finca no se logró establecer el número de partos, ni la edad de la vaca, por consiguiente, es muy posible que estos calostros provengan de vacas con más de dos partos manifestándose en concentraciones altas de Ig al ser comparadas con otros estudios.

2. Un factor importante en la producción de calostros de buena calidad es la alimentación de las vacas durante el periodo de gestación, como es el caso de este predio en particular, el cual tiene pasturas mejoradas mediante la asociación de gramíneas y leguminosas, además ofrece suplementación a los animales, de tal forma que el nivel nutricional presente en las vacas se manifestó en la calidad del calostro.

La observación mas importante en el estudio es, que a pesar de que se utilizaron calostros de las primeras 10 horas post parto, donde se permitió amamantar al ternero y luego se colectaron, la concentración de Ig fue mayor frente a otros estudios en calostro de lechería especializada de zonas templadas donde la colección de calostro se realiza inmediatamente después del parto antes del que ternero se alimente.

Son evidentes las diferencias en los valores inmunológicos y en las concentraciones de Ig al igual que en las propiedades físicas y químicas que componen el calostro en vacas de ganaderías especializadas en lechería de zonas templadas que no han sido ordeñadas, en comparación con el calostro de vacas del sistema doble propósito en el trópico bajo colombiano (Piedemonte del Meta) después de dejar amamantar el ternero (Tabla 3). Esto es explicado según reportes de Wattiaux, (2001) el cual afirma que las vacas lecheras tienen una concentración de Ig entre 6-9%, además dentro de este sistema existen razas con menor porcentaje de Ig, como es el caso de vacas Holstein, las cuales proporcionan en su calostro una concentración menor con respecto a calostros de razas como Guernsey, Jersey, Ayrshire y Pardo Suizo. A lo anterior es de importancia referir que estas vacas (lechería especializada) por su condición lechera predisponen a volúmenes grandes de calostro y por consiguiente los sólidos totales contenidos en este se encuentran en menor cantidad debido a la dilución de los mismos. Las vacas *Bos indicus* presentan mayor concentración de Ig totales en calostro que las vacas *Bos taurus* ($P < 0.05$), porque las Ig totales

están directamente relacionadas con el volumen de calostro producido (Parra, 2003).

Tabla 3. Comparación de medias de concentración de Ig y otros componentes del calostro entre vacas lecheras de zonas templadas que no han amamantado al ternero y vacas doble propósito del trópico bajo colombiano

Descripción	Vacas lecheras zona templada	Vacas doble propósito
Densidad (mg/ml)	1,056	1,057
Ig Totales (mg/dL)	5913	6923,57
Ig G (mg/dL)	5002	5882,93
Ig G ₁ (mg/dL)	4690	5544,73
Ig G ₂ (mg/dL)	3.12	338,2
Ig M (mg/dL)	496	670,36
Ig A (mg/dL)	415	370,61
Sólidos totales (%)	23,9	23,89
Proteína Total (%)	14	13,32
Grasa (%)	6,7	3,78
Minerales (%)	1,11	1,48

Respecto a la densidad, la ecuación obtenida en la curva de regresión lineal (Figura 5), para la determinación de densidad; utilizando el picnómetro en función del lactodensímetro fue la siguiente: $Y_i = 0.9498x_i + 53.826$ donde: y_i : Valor densidad observada con picnómetro, x_i : Variación en la densidad del lactodensímetro y $R^2 = 0.9572$.

Al realizar un análisis de varianza entre los valores obtenidos con el picnómetro en el laboratorio y los valores calculados por la ecuación presentó una probabilidad de 0.77, lo cual indica que es necesario ajustar aún más el uso del picnómetro en función del lactodensímetro. El anterior resultado proporciona un acercamiento hacia la utilidad que ofrece el picnómetro, con lo cual se espera que con la realización de posteriores investigaciones en base a este aspecto se disponga de una alternativa confiable, con la cual se requeriría de un volumen de muestra de

calostro menor, con esto la labor de transporte, almacenamiento y consecución de las muestras se convertiría en una labor más práctica.

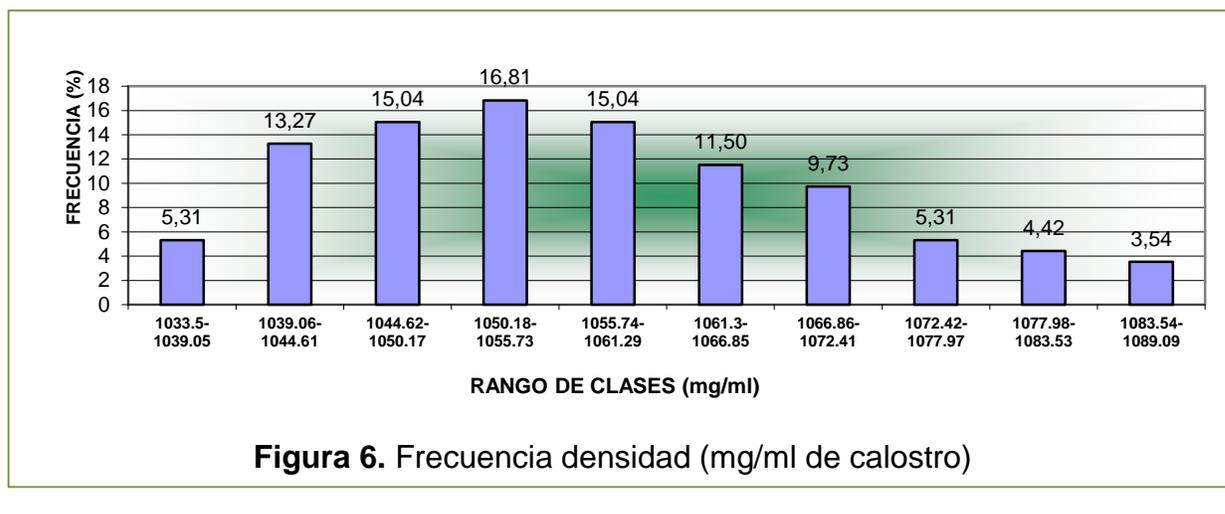
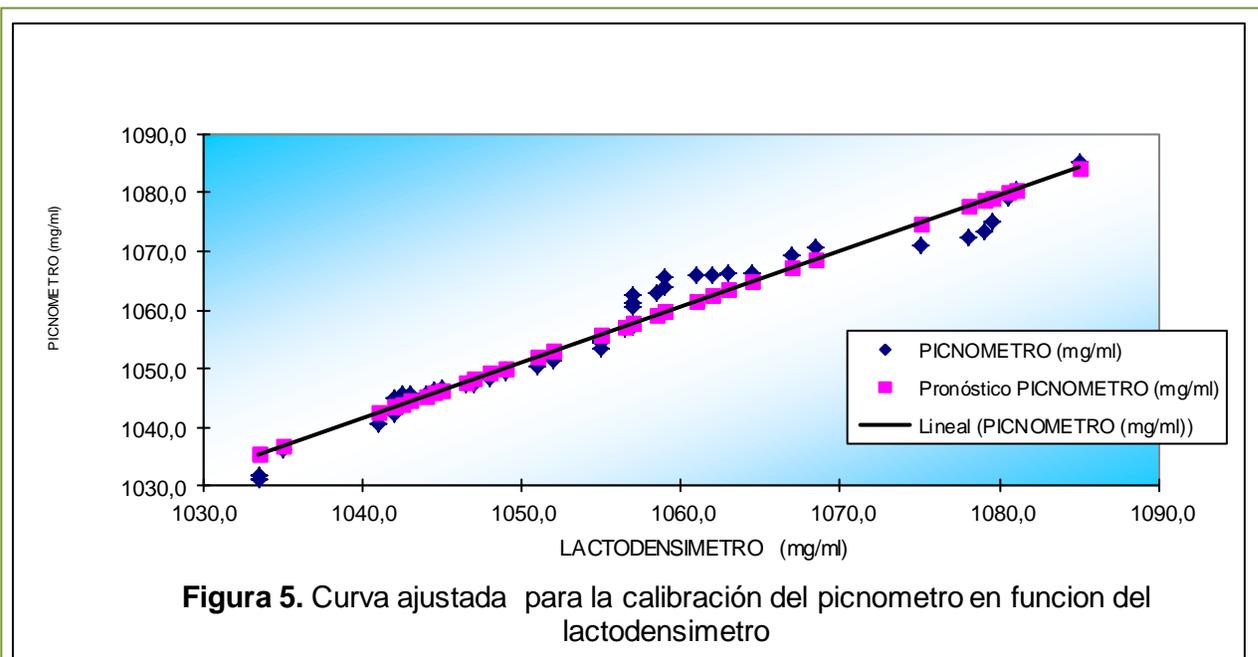
Los datos obtenidos de densidad en calostro del sistema doble propósito estuvieron entre 1033.5 mg/dL y 1089.0 mg/dL, el amplio rango de densidad esta dado porque las muestras provienen de vacas de diferente número de parto, así como el hecho que los calostros fueron colectados a diversas horas posparto en las primeras 10 horas. La media de densidad fue 1057 mg/dL. El histograma presenta tres grupos definidos de densidad; el primer grupo está conformado por las densidades de 1033.5-1050.17 mg/ml; el segundo entre 1050.8-1061.29 mg/ml y el tercero entre 1061.3-1089.09 mg/ml (Figura 6).

Según Flórez, (2000) calostros con densidades inferiores a 1050 mg/ml son de baja calidad por su bajo contenido de Ig, porque ofrecen menos de 50 mg/ml de Ig totales en calostro. En el presente estudio, calostros con una densidad de 1042 mg/ml (media para el primer grupo en el histograma) contienen 62.79 mg/ml de Ig totales, concentración suficiente para proporcionar un nivel sérico de Ig totales aproximadamente de 9.5 mg/ml en las primeras dos horas de vida. A partir de este criterio, la diferencia entre los tres grupos radica en la cantidad de volumen necesaria para ofrecer una adecuada protección inmune al ternero.

El pH promedio obtenido fue 5.95, los datos se encuentran distribuidos entre los rangos de 4.77 y 6.51; el 81% de las muestras se ubicaron entre 5.89 y 6.61, correspondiendo en la gráfica a una distribución con tendencia a la derecha (Figura 7). Respecto a la absorbancia los calostros presentaron una alta variabilidad o dispersión de los valores, el promedio obtenido fue de 1.07% medido en espectrofotómetro a una longitud de onda de 630 nm. (Figura 8).

El promedio de materia seca fue 23.89 g/100 g de calostro. De forma similar que el histograma de densidad; materia seca forma 3 grupos definidos: Grupo 1 (13.30-21.21% de sólidos totales) representado en el 22.61% de las muestras, Grupo 2 (21.22-27.15%) con el 59.13% de las muestras y el Grupo 3 (27.17-33.09%)

ocupado por el 18.26% de los calostros. Al comparar los histogramas de densidad y materia seca se observó una relación directa la cual es explicada por la conformación de los tres grupos en el histograma. El 59.13% de las muestras se ubicaron en el grupo dos; la diferencia entre los tres grupos, a pesar de presentar un buen porcentaje de sólidos totales, es el mayor o menor contenido de sus componentes explicados por el número de parto de las vacas (Figura 9).



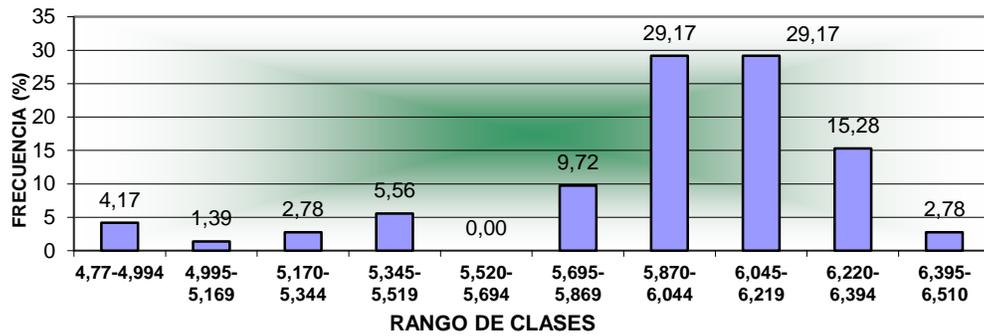


Figura 7. Frecuencia de pH de las muestras de calostro analizadas

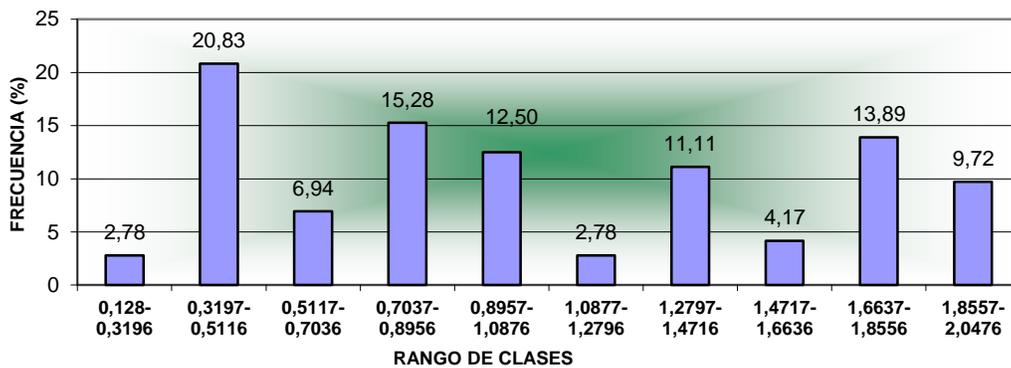


Figura 8. Frecuencia absorbancia (630 nm) de las muestras de calostro analizadas

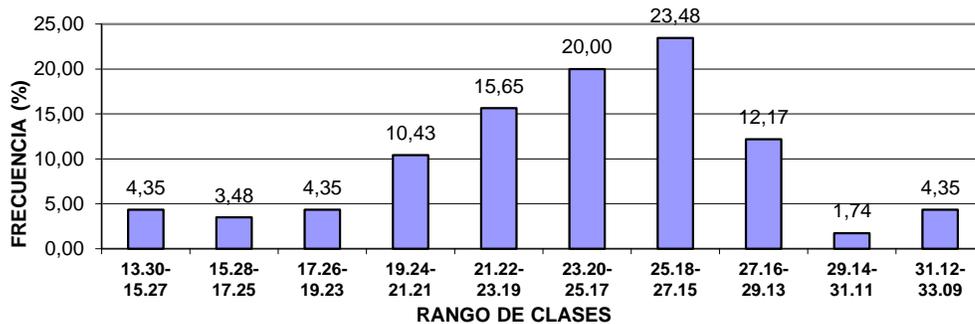


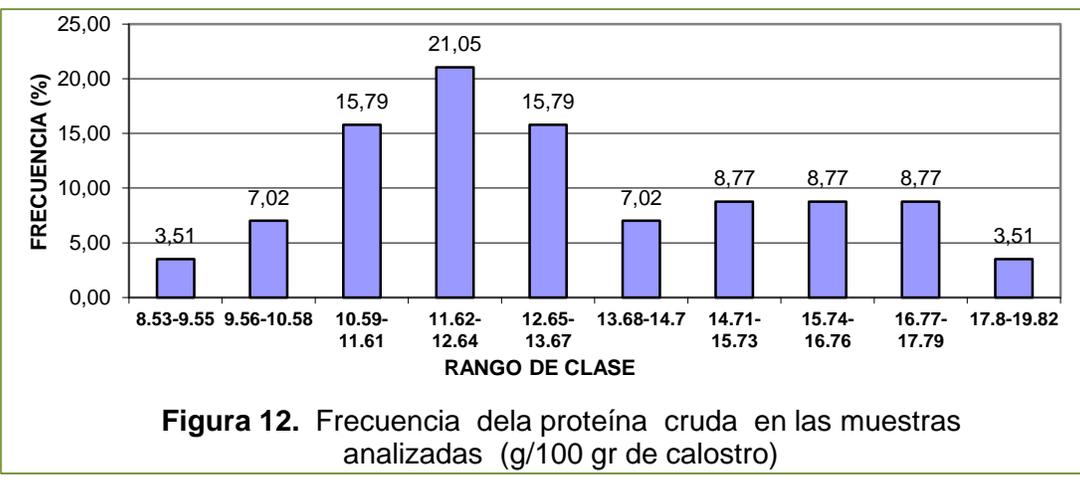
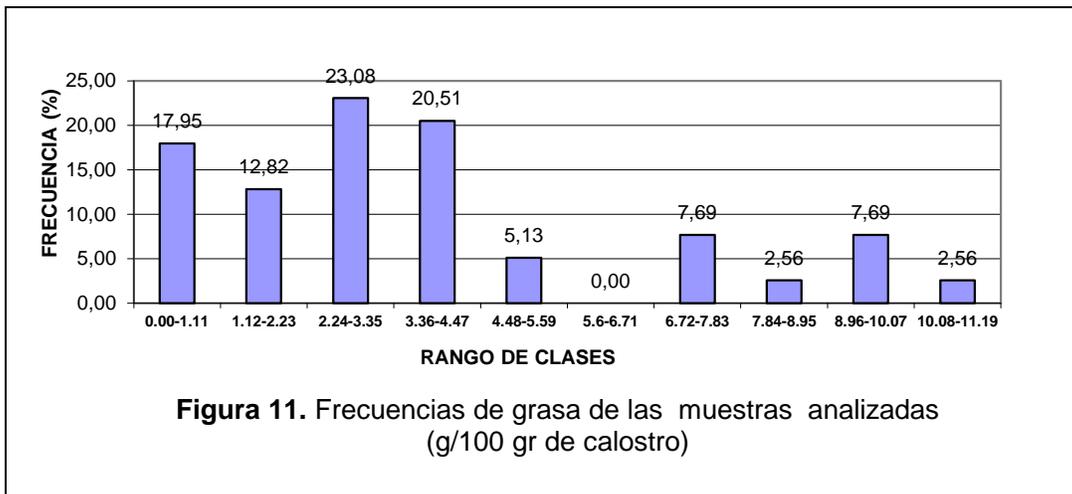
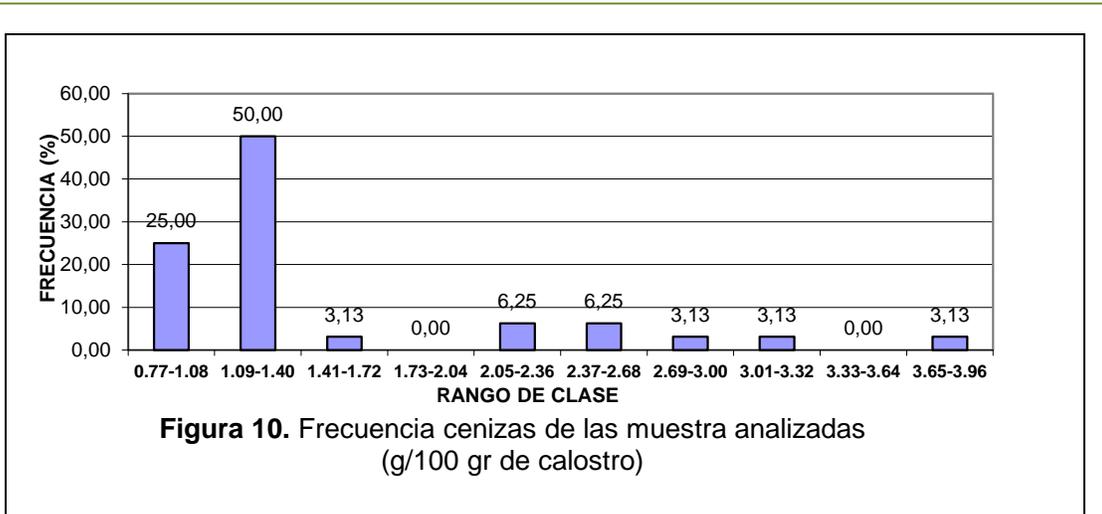
Figura 9. Frecuencia de la materia seca (g/100 gr calostro)

El valor medio de cenizas se encontró en 1.48 g/100 g de calostro, el 75% de las muestras se encontró entre 0.77-1.40 g/100 g de cenizas formando en la gráfica una distribución con tendencia a la izquierda (Figura 10).

El valor medio de grasa fue de 3.77 g/100 g de calostro, este es inferior al publicado por Flórez, (2000) de 6.7 g/100 g en vacas de lechería especializada de zonas templadas; lo anterior es explicado por las diferencias en la alimentación y la variabilidad genética; sin embargo se presentó un 20.5% de muestras que superaron el valor citado por este autor, lo cual indica que aunque las condiciones de producción y sanidad no son las mismas para los dos sistemas, en comparación sobresale la calidad del calostro en el sistema doble propósito (Figura 11).

En la proteína cruda persiste la formación definida de grupos, el 10.53% de las muestras están entre 8.53-10.58 g/100 g de calostro; el 52.63% de las muestras están entre rangos de 10.59-13.67 g/100 g de calostro y el 36.84% tiene los valores de 13.68-19.82 g/100 g de calostro. Este último grupo supera el valor publicado por Flórez, (2000) donde el porcentaje de proteína en vacas de lechería especializada en zonas templadas es de 14 g/100 g; lo anterior confirma la calidad del calostro en el sistema doble propósito. El valor promedio de proteína fue de 13.32 g/100 g de calostro (Figura 12).

En cuanto a gamma glutamil transferasa (GGT) el 60% de las muestras presentaron niveles entre 0.00 y 461.6 UI/L de calostro. El valor medio fue 730.86 UI/L. Los niveles de GGT pueden alcanzar hasta 200 veces más el contenido de esta enzima en suero sanguíneo; se estaría entonces hablando de niveles mínimos superiores a 3000 UI/L de calostro. En este caso solamente el 4.17% de las muestras superan este valor (Figura 13).



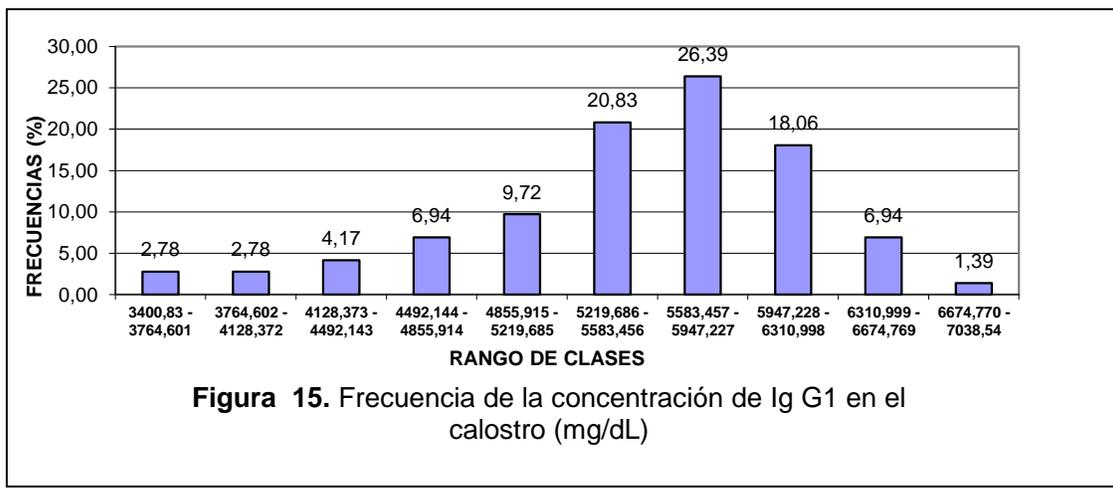
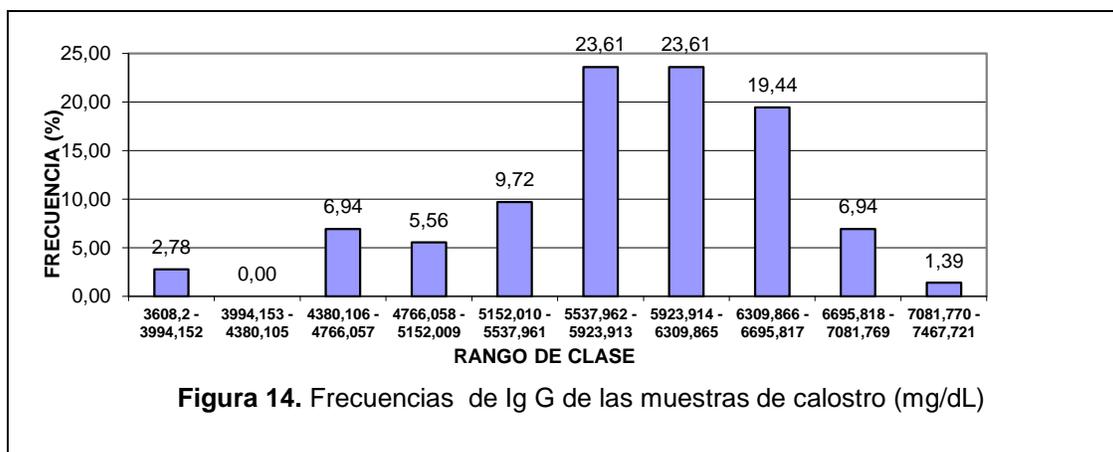
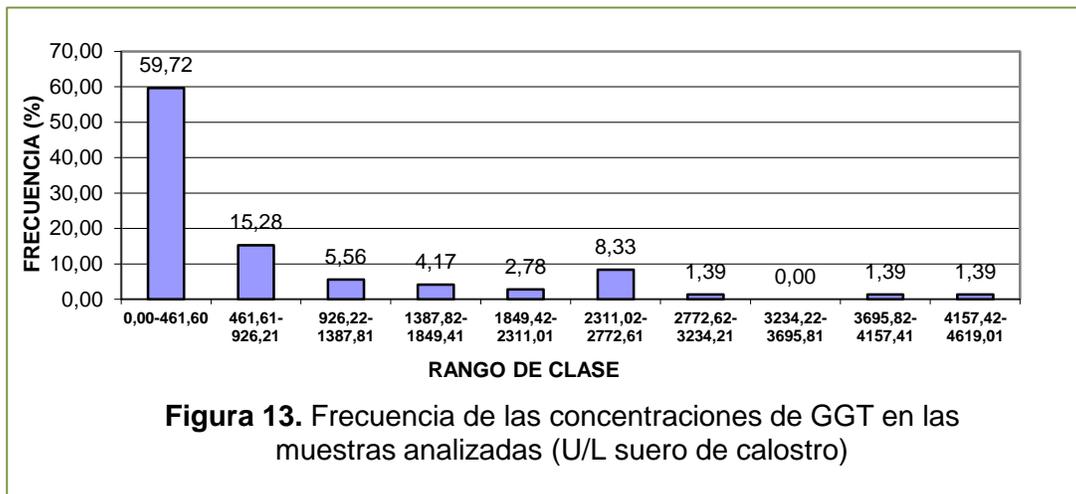
Características inmunológicas

El valor medio de IgG obtenido fue 5862.93 mg/dL; el 84.7% de las muestras resultaron con niveles superiores a los reportados en la literatura (por kit Biomedicals ICN, 2003) en ganadería especializada de lechería en zonas templadas (5050 mg/dL). El histograma presentó la formación de tres grupos; indicando la relación directa de IgG entre densidad, materia seca representada por la concentración de IgG en cada uno de los grupos del histograma. El primer grupo se encuentra entre los valores de (3608.2-5537.96 mg/dL), correspondiendo al 25% del total de las muestras, el segundo de (5537.97-6695.81 mg/dL), representando el 66.6%, el tercer grupo (6695.82-7467.72 mg/dL) con el 8.33% (Figura 14).

Respecto a los subtipos de Ig G (IgG₁ e IgG₂), consecuente con la formación de grupos en el histograma de IgG, estos comparten su distribución porcentual en el histograma. El 28.3% de las muestras obtenidas para IgG₁ están entre los rangos de 5583 - 6947 mg/dL, valor superior al dado por la referencia. El valor medio fue de 5544.73 mg/dL. En cuanto a la IgG₂ el valor medio fue 338.2, el 49% están entre los rangos de 318 - 382 mg/dL (Figuras 15 y 16).

En la IgM la media obtenida fue 670 mg/dL, valor superior al compararlo con niveles reportados por Vann *et al.*, (1995) ICN Biomedicals®, (2003) de 390 mg/dL y 420 mg/dL respectivamente. El histograma presentó tres grupos definidos de concentraciones de IgM. El 77.8% de los calostros mostraron un valor superior e inclusive tres veces mayores con respecto al valor reportado en la literatura; el 22.22% de las muestras se ubican en los rangos de 491-612 mg/dL y el 11% fueron inferiores a los reportados por la literatura: 7.44-370.60 mg/dL (Figura 17).

El valor medio de IgA para el estudio fue de 370.6 mg/dL; se destaca el porcentaje de muestras entre los rangos 401.9-468.2 mg/dL (13%) y 468.2-534.6 mg/dL (21.9%). Se presentaron niveles mayores a 600 mg/dL de calostro en un 2.74% del total de las muestras (Figura 18).



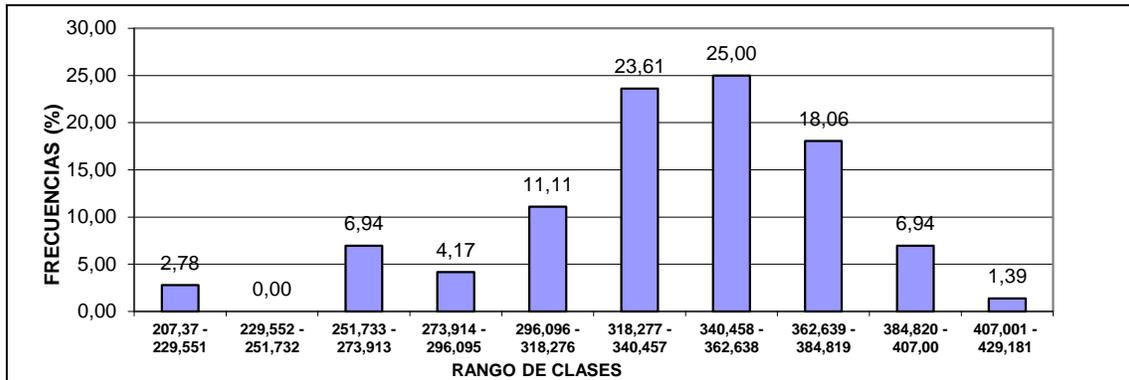


Figura 16. Frecuencia de la concentración de Ig G2 en el calostro (mg/dL)

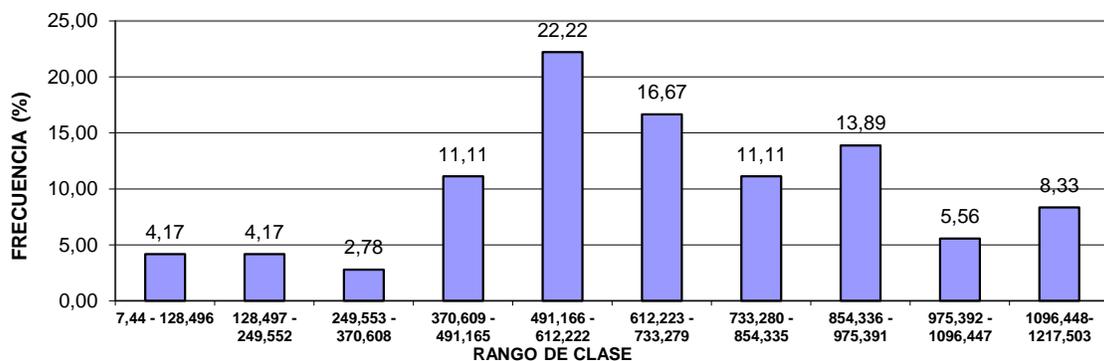


Figura 17. Frecuencia de la concentración de IgM del calostro analizado (mg/dL)

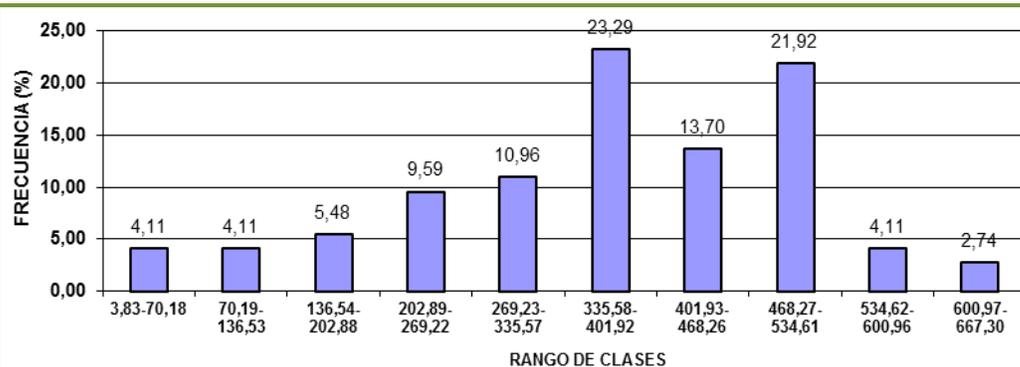
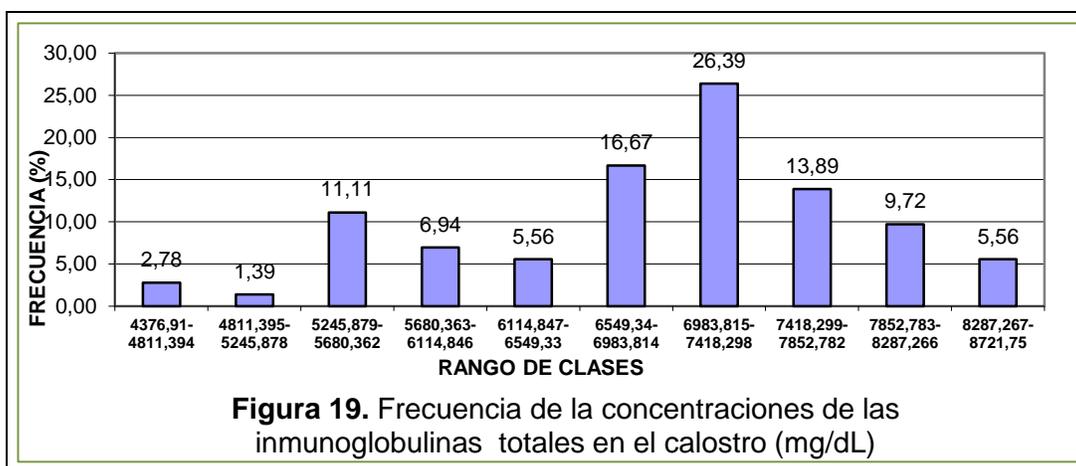


Figura 18. Frecuencia de la concentración de Ig A en el calostro analizado (mg/dL)

El valor medio de Ig totales fue 6923.57 mg/dL, el cual es superior al promedio encontrado en reportes ICN Biomedicals®, (2003) Flórez, (2000) y Parra, (2003) 5780, 5860 y 4800 mg/dL respectivamente en ganado de lechería especializada en zonas templadas, e inferiores a los reportados por Barrington *et al.*, (2001) en vacas Holstein y Pardo Suizo en zonas templadas antes de ser amamantado el ternero (8100 mg/dL) y después de ser amamantado (5800 mg/dL) (Figura 19).

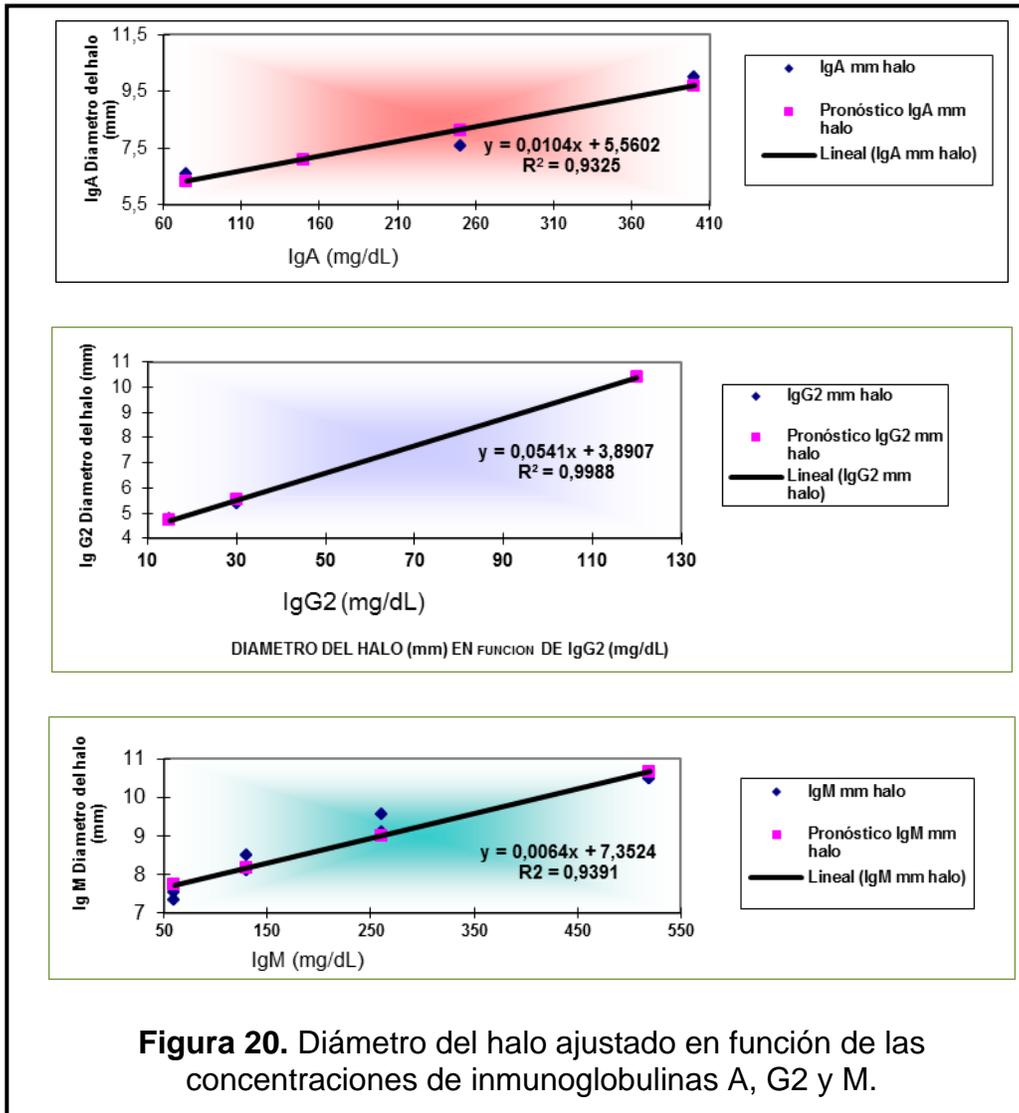
Los anteriores estudios se aproximan al apreciable valor inmunológico aportado por vacas del sistema doble propósito; ya que, aunque los valores reportados por el presente estudio se encuentran entre los valores internacionales, la gran diferencia radica en que son calostros evaluados después de que el ternero lo ha consumido.



Corroborando la calidad inmunológica de los calostros en evaluación, reportada por Flórez en el 2000, el cual dice que calostros que contengan una concentración mayor o igual a 50 mg/ml de Ig en calostro son de excelente calidad debido a su aporte inmunológico, el 95.84% de los calostros colectados para el presente estudio contienen una concentración mayor o igual a 50 mg/dL (Figura 19).

Las curvas patrón de regresión ajustadas del diámetro del halo en función de las concentraciones de las diferentes Ig A, G₂ y M se presentan en la Figura 20, con su respectiva ecuación. Se observa una correlación directa entre la concentración

de la Ig con el diámetro de halo, siendo la de mayor el halo de la Ig G₂ (11 mm) a una concentración de 130 mg/dL en comparación con las otras dos, en donde el halo de la Ig M (11mm) con una concentración de 550 mg/dL y en la Ig A, su halo no pasa de 10 mm a una concentración de 410 mg/dL.



Varios estudios reportan la ecuación obtenida para determinar concentración de globulinas en función de densidad, observándose en el presente estudio la aproximación de la relación de las Ig con densidad, teniendo en cuenta que está influenciada por factores externos como manejo de la prueba, método utilizado

para desengrasar las muestras, temperatura a la cual fueron almacenadas, entre otras; por lo tanto es necesario continuar con la investigación exhaustiva y completa controlando aún más las variables que afectan la interpretación de los resultados. La ecuación obtenida se basó en los estudios de Fleenor y Stott, (1980) para la determinación de Ig en función de densidad que fue la siguiente: $y_i = -34772.5(x_j) + 39.413$ donde: $y_i =$ Variación en la concentración de Ig (mg/dL); $x_j =$ Valor de densidad observado (mg/ml) y $R^2 = 0.230$

Al obtener un coeficiente de determinación de 0.23 indica que la concentración de Ig es responsable del 23% de la variación de la densidad; la variación entre las ecuaciones reportadas en la literatura por Quigley, 2000; Hernández y Olaya, 2004 y la obtenida por los autores se debe a la diversificación de metodología y obtención de las muestras. Además, se evaluó un modelo de regresión lineal múltiple para determinar Ig a partir de densidad y materia seca obteniendo la ecuación: $y_i = -38261.5 + 43.324(x_1) - 25.387(x_2)$ donde: $y_i =$ Variación en la concentración de Ig; $x_1 =$ Valor de densidad observado (mg/ml); $x_2 =$ Valor de materia seca observado (g/100 g calostro) y $R^2 = 0.222$

El modelo obtenido para la determinación de Ig a partir de una regresión lineal múltiple entre densidad y materia seca demostró un modelo de ecuación, la cual tiene un $R^2 = 0.222$. Lo anterior conlleva a la necesidad de continuar en la investigación de la interacción de las variables en estudio, con el fin de ajustar un modelo de determinación más preciso, como herramienta útil en laboratorio. Las IgG e IgA mostraron una correlación positiva, y la ecuación para determinar IgG a partir de IgA es la siguiente: $y_i = 4440.838 + 3.808(x_j)$ donde: $y_i =$ Variación en la concentración de IgG (mg/dL); $x_j =$ Valor de IgA observado (mg/dL) y $R^2 = 0.379$

Para el caso contrario, es decir, predecir la concentración de IgA a partir de la concentración de IgG la ecuación es: $y_i = -249.645 + 0.105(x_j)$ donde: $y_i =$ Variación en la concentración de IgA (mg/dL); $x_j =$ Valor concentración de IgG observado (mg/dL) y $R^2 = 0.379$.

Para determinar la concentración de IgG en función de IgA, densidad y absorbancia la ecuación lineal múltiple obtenida fue la siguiente: $y_i = -22315.6 + 3.860(x_1) + 24.857(x_2) + 517.044(x_3)$ donde: y_i : Variación en la concentración de IgG (mg/dL); x_1 : Valor co; x_3 : Valor de absorbancia observado (%) y $R^2 = 0.543$.

La interacción de más de una variable proporciona un modelo más ajustado. La mayor dificultad que presenta la determinación de IgG a partir de IgA y absorbancia es el costo incurrido en la prueba ya que es necesario contar con el kit y un espectrofotómetro. Por otro lado, la proteína cruda presentó tres ecuaciones simples correlacionadas positivamente y explicadas con base a materia seca, densidad y cenizas, las cuales se presentan a continuación:

Proteína en función de Materia Seca: $y_i = -0.942+0.558(x_i)$ donde: y_i : Variación en la concentración de proteína (g/100 g calostro); x_i : Valor de materia seca observado (g/100g calostro) y $R^2: 0.354$.

Proteína en función de densidad: $y_i = -120.700 + 0.127(x_i)$ donde: y_i : Variación en la concentración de proteína (g/100 g calostro); x_i : Valor de densidad observado (mg/ml) y $R^2: 0.371$.

Proteína en función de Cenizas: $y_i = 10.543+1.708(x_i)$ donde: y_i : Variación en la concentración de proteína en calostro (g/100 g calostro); x_i : Valor de Cenizas observado (g/100 g calostro) y $R^2: 0.228$.

Densidad en función de Materia Seca: $y_i = 1010.061+1.965(x_i)$ donde: y_i : Variación en la densidad del calostro (mg/ml); x_i : Valor de la materia seca observada (g/100g calostro) y $R^2: 0.41$.

De los modelos de ecuación resultantes entre las variables de mayor correlación explican en un valor inferior al 50 % la variación entre ellas; por tal razón es aún prematuro determinar la calidad del calostro por variables diferentes a la cuantificación de Ig.

Se observaron diferentes tipos de calostro de acuerdo a la densidad porque los promedios de la estadística descriptiva de las variables evaluadas y los cuartiles de densidad fueron diferentes ($P < 0.05$) en los cuartiles por densidad para cenizas, proteína cruda, materia seca, Ig total, IgG, IgG₁, IgG₂ y GGT; no así, para grasa, pH, IgA, IgM y absorbancia ($P > 0.05$) (Tabla 4), por lo tanto los calostros se clasificaron en cuatro grupos (cuartiles) ordenados de menor a mayor a partir de los valores de densidad así:

Tabla 4. Grupos de calostro con base a densidad de dos predios del sistema doble propósito del Piedemonte del Meta.

Variables	Calostro			
	Tipo 1	Tipo 2	Tipo 3	Tipo 3
Densidad (mg/ml a 15°C)	1042	1054.13	1067.31	1081.9
Cenizas (g/100 g calostro)	1.15	1.23	2.08	2.38
Grasa (g/100 g de calostro)	5.19	3.84	2.62	4.01
Proteína (g/100 g calostro)	11.64	12.69	14.46	17.62
Materia Seca (g/100 g calostro)	20.66	23.17	26.05	29.98
pH	5.974	5.91	5.96	6.08
Ig A (mg/dl)	354.47	352.04	394.5	418.49
Ig G (mg/dl)	5377.14	5859.89	6155.85	6245.87
Ig G ₁ (mg/dl)	5068.11	5522.86	5798.3	5886.55
Ig G ₂ (mg/dl)	309.03	337.03	353.55	358.94
Ig M (mg/dl)	547.72	667.19	728.19	745.35
Total Ig (mg/dl)	6279.32	6879.12	7254.55	7409.32
GGT (UI/L)	623.04	406.67	807.49	2681.74

Cuartil 1 ó calostro tipo 1: 1033.5-1047 mg/ml: para utilizar como suplemento nutricional en los terneros neonatos principalmente a partir de las 24 horas de nacido. En casos especiales puede emplearse para proveer inmunidad pasiva procurando que el ternero ingiera mínimo 2.9 litros de calostro con estas características en las primeras tres horas de vida

Cuartil 2 ó calostro tipo 2: 1047.5-1061 mg/ml: Se le puede dar el mismo uso que los calostros de cuartil uno, sin embargo, de no disponer de un calostro de mayor

densidad, asegurarse de que el ternero consuma una cantidad mínima de 2.6 litros de este calostro en las primeras 3 horas de nacido.

Cuartil 3 ó calostro tipo 3: 1061.5-1075 mg/ml: Por su valor inmunológico se recomienda utilizarlo para transferir una adecuada inmunidad al ternero recién nacido. Suministrar al ternero mínimo una cantidad de 2.5 litros de este calostro en las primeras 2 horas de vida y el excedente de calostro almacenarlo para otros terneros posteriormente

Cuartil 4 ó calostro tipo 4: 1075.5-1089 mg/ml: es un calostro ideal para garantizar una excelente inmunidad al ternero. Procurar que el ternero recién nacido ingiera mínimo 2 litros de este calostro en las 2.4 primeras horas de nacido. El calostro excedente almacenarlo para los terneros que nacerán posteriormente.

MÉTODOS DE CONSERVACIÓN DE CALOSTRO

No se presentaron diferencias en los tiempos de medición para cada uno de los tratamientos de conservación ($P < 0.05$), el no cambio de las variables medidas puede ser atribuido a que el calostro por su mayor contenido de sustancias bacteriostáticas (lactoferrina) y bactericidas (lizosimas, opsoninas, células blancas) comparado con los niveles presentes en la leche, logra preservarse por más tiempo al inhibir el crecimiento bacteriano y micótico.

Para lograr un buen almacenamiento es importante realizar una adecuada colección del calostro bajo condiciones higiénicas, de esta forma mantiene por más tiempo las características propias del mismo. El método a elegir sin duda alguna es el congelado, pero no es posible aplicarlo en la totalidad de los predios; por tal razón es importante tener en cuenta los resultados obtenidos en el presente estudio con los demás tratamientos evaluados.

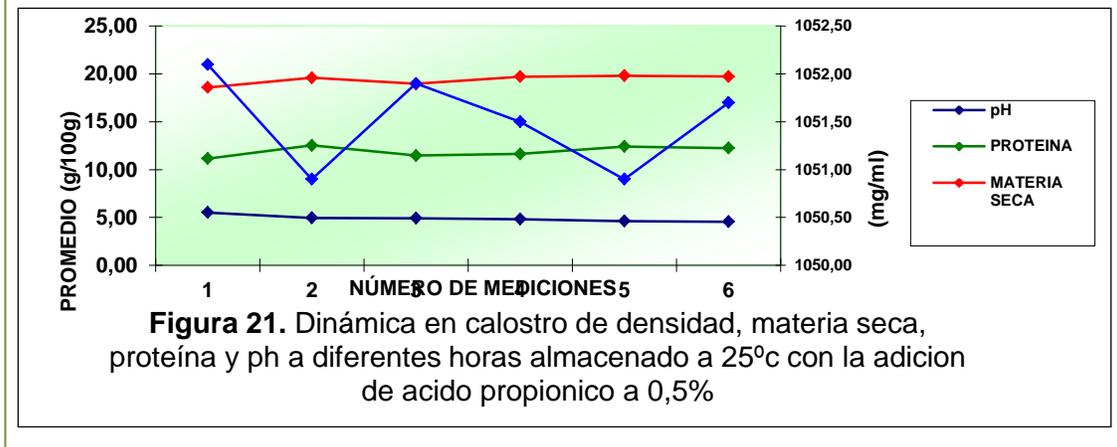
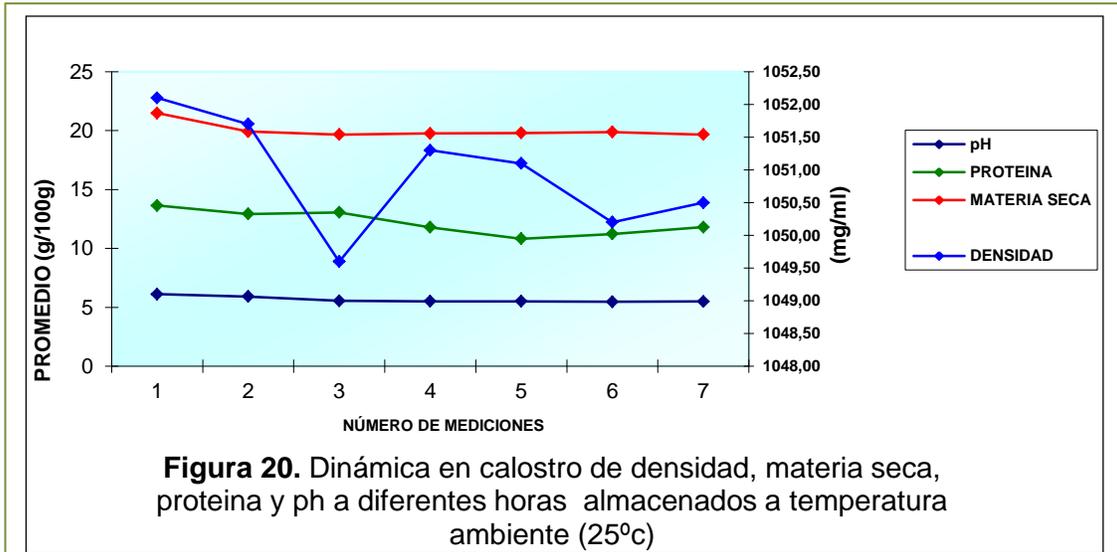
Método de conservación a temperatura ambiente (25°C). La estadística descriptiva de densidad, proteína, materia seca y pH, evaluadas con este método de conservación durante las 10 horas de almacenamiento, no presentó diferencias

significativas. El éxito de la conservación es mantenerlo protegido de los rayos solares, recolectarlo en recipientes limpios y herméticamente cerrados. Los calostros presentaron una temperatura interna de 24°C a las 2 horas de almacenamiento, oscilando la temperatura durante la hora 4-6 un grado por encima de la primera lectura y a la hora 10 de evaluación fue de 25°C. El no cambio de las variables evaluadas durante 10 horas de almacenamiento puede ser explicado a que la temperatura ambiente (25°C) es un rango límite para controlar el crecimiento progresivo de levaduras, hongos y bacterias (Parra, 2003).

Método de conservación almacenados a temperatura ambiente (25°C) con la adición de ácido propiónico al 0.5%. El comportamiento de la temperatura interna de los calostros en la primera evaluación (2 horas) fue de 24°C, y entre la hora 4 y 6 la temperatura disminuyó 3°C gradualmente, para terminar en 21°C a las 36 horas de almacenamiento.

En el momento de adicionar el ácido propiónico al calostro se debe tener ciertas consideraciones, entre las que están: colocar la concentración adecuada para evitar sobredosificación del uso del ácido propiónico para evitar sobre dosificación, además en el momento de adicionarlo el calostro debe ser agitado proporcionando completa homogenización de los dos líquidos para evitar la formación de coágulos, durante el tiempo de almacenamiento se debe agitar constantemente para evitar la estratificación de los sólidos totales. El olor que tiene el ácido es fuerte, lo cual podría ser una desventaja al momento de ser suministrado al ternero por efectos de palatabilidad. Con el propósito de generar un avance en la consideración de generar bancos de calostros en un futuro, se tuvo en cuenta la temperatura usada comúnmente por los predios, los cuales son colocados en la nevera (8°C), manteniendo la temperatura interna de los calostros a 10°C durante las 168 horas de evaluación del presente método, en la Figura 20 se muestra la dinámica de las variables analizadas en el tratamiento refrigerado a las diversas horas, las cuales no presentaron diferencias apreciables.

En la Figura 21 se presenta el comportamiento de las variables evaluadas durante las horas de almacenamiento, con la adición del ácido propiónico lo que provocó una disminución del pH inicialmente (de 6.12 a 5.52) y siguió disminuyendo gradualmente en cada medición hasta 4.55 en la hora 36.



Método de conservación refrigerado. Las variables densidad, materia seca, proteína y pH no presentaron ($P > 0.05$) variaciones importantes en las horas de evaluación (Figura 22).

Método de conservación congelado. Por reportes de literatura, este es el mejor método de almacenar calostro, y el presente estudio arrojó los resultados

esperados referentes al anterior planteamiento, lo cual fue comprobado al no presentar diferencias entre las variables analizadas durante los 30 días de almacenamiento. Sin embargo, el mantener el calostro a bajas temperaturas por un período prolongado de tiempo por el efecto del congelamiento se cristaliza, como consecuencia, las células blancas principalmente linfocitos son afectadas por rompimiento de sus membranas, por consiguiente, pierden su funcionalidad. (Quigley, 1998), en la Figura 23 se observa los comportamientos de las variables a las diferentes horas de análisis.

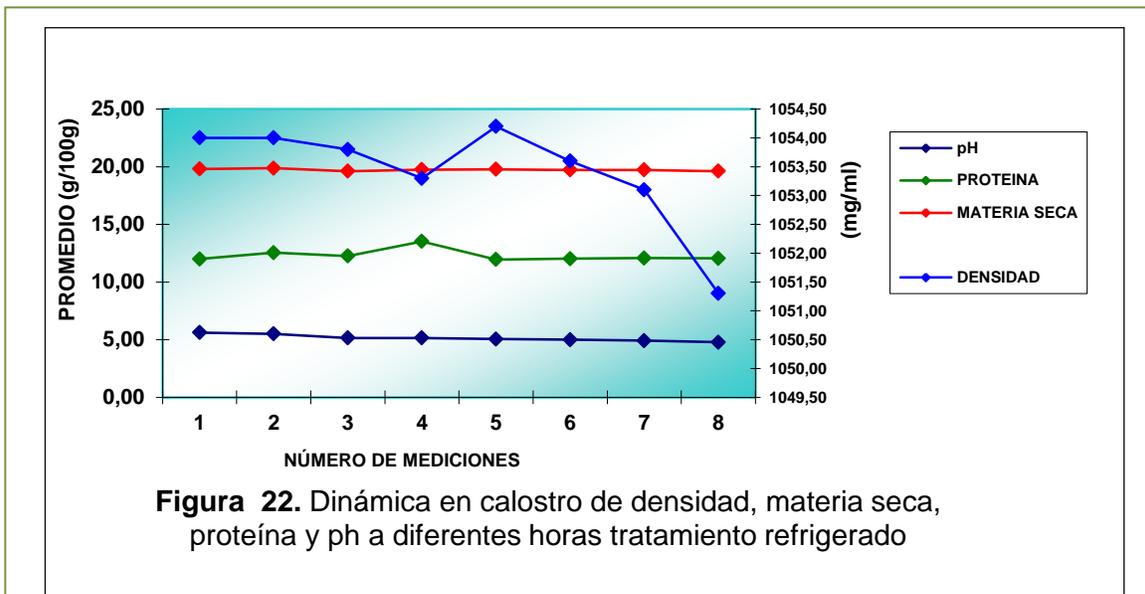


Figura 22. Dinámica en calostro de densidad, materia seca, proteína y ph a diferentes horas tratamiento refrigerado

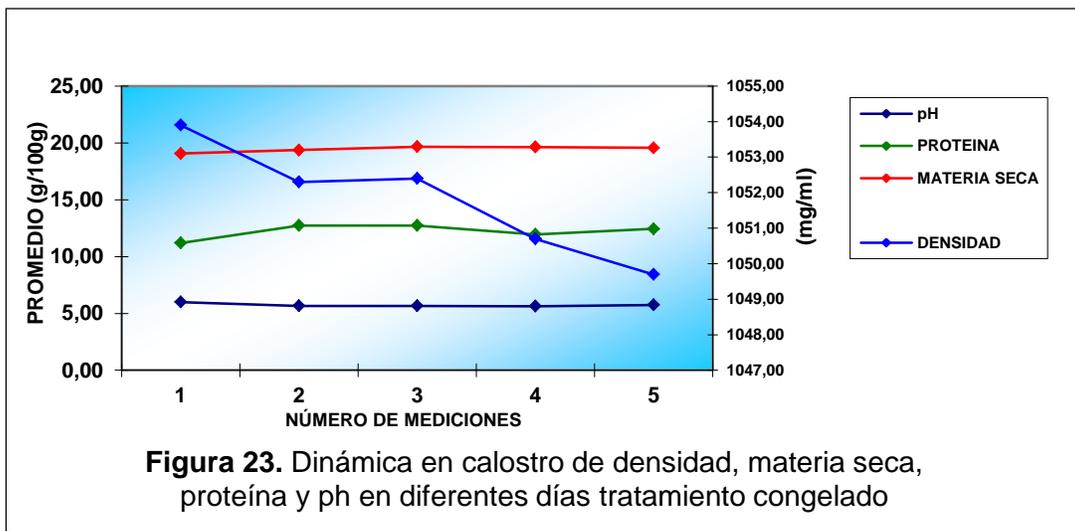


Figura 23. Dinámica en calostro de densidad, materia seca, proteína y ph en diferentes días tratamiento congelado

CONCLUSIONES

El calostro de vacas doble propósito de dos predios del Piedemonte del Meta presentó valores que se encuentran dentro de los reportados en diferentes estudios en lechería especializada de zonas templadas. También se demostró un valor inmunológico de 6923 mg/dL, por lo tanto, el volumen administrado al ternero depende de la concentración de las Ig en las primeras dos horas de vida, de tal forma que calostros con densidades que se encuentren entre los rangos 1061.5-1089 mg/ml se requiere consumir entre 2.5 litros, y los que están entre 1033.5-1061 requiere un consumo de 3.0 litros

La utilidad inmunológica y nutricional que ofrece el calostro, es también importante, ya que se pueden aprovechar como suplemento a terneros menores de 4 meses a una dilución final de 1 en 3, es decir a cada litro de calostro adicionar 2.0 litros de agua, obteniendo una concentración de proteína de 3.87%, esto es para calostros con densidades menores a 1061 mg/ml y para los que presenten una densidad superior a 1061 la dilución corresponde a 1 en 3.5 y así obtener una concentración de proteína de 3.62% porcentaje similar al de la leche en vacas del sistema doble propósito (3.41%).

Se encontró una correlación positiva ($P < 0.01$) de densidad con concentración de Ig totales, IgG₂, materia seca, proteína total, cenizas y GGT. De igual manera, materia seca esta correlacionada con proteína total y GGT ($P < 0.01$) y proteína total con cenizas ($P < 0.01$), pero al realizar la función de dependencia el modelo no ajusto. Sin embargo, es preciso realizar estudios adicionales similares para hacerlo, que en estudios internacionales han reportado un valor más alto en la función de dependencia, por lo menos en el caso de la concentración de Ig totales en función de la densidad del calostro.

El calostro almacenado por un tiempo de 10 horas (temperatura ambiente 25°C) es útil para la alimentación de terneros neonatos si en las primeras 2 horas no ha logrado ingerir calostro de la ubre, igualmente, se puede emplear como refuerzo

inmunológico si éste es de buena densidad (>1.057 g/ml) en caso contrario, se puede emplear como complemento nutricional. Lo mismo aplica para calostros acidificados, refrigerados y congelados por lo menos durante los tiempos analizados en este trabajo

RECOMENDACIONES

El promedio de peso al nacimiento en terneros en fincas del sistema doble propósito es de 27 kg. Con base en la media de Ig totales determinados en este estudio (6923 mg/dL y una densidad promedio de 1.057 g/ml) se recomienda suministrar a los terneros una cantidad mínima de 1.6 litros de calostro (del primer ordeño en lo posible) antes de las 2 primeras horas de nacido, teniendo en cuenta que un ternero neonato con este peso debe absorber como mínimo 21.6 g de Ig totales del calostro; es decir, 8 mg/ml de sangre circulante en su organismo.

Profundizar en la investigación y estandarización de bancos de calostro en cuanto a la valoración de la calidad microbiológica, ampliación de tiempos de lectura en especial del tratamiento en fresco, y en la utilización de otros ácidos débiles preservantes o sus sales, con el fin de ajustarlo a las necesidades y beneficios del productor.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AOAC. Official Methods of Analysis (18th) Association of Official Analytical Chemists, Arlington, V. A. Washington, D.C. 2006.
2. Aricada H., Bedoya R., García A., Heredia C., Peláez C., Ceballos A. Competencia inmunológica en la primera semana de vida en terneros mantenidos bajo dos sistemas de producción de leche. Rev Col Cienc Pec., 17 (2): 167-174. 2004.
3. Barrington G. M., Mc Fdden M. T., Besser T. E. Regulation of colostrogenesis in cattle. Livestock Production Science, 70: 95-104. 2001.
4. Castro P., Elizondo J. Crecimiento y desarrollo ruminal en terneros alimentados con iniciador sometido a diferentes procesos. Agron. Mesoam., 23 (2): 343-352. 2012. Disponible En: http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S165913212012000200013&lng=es&nrm=iso

5. Escobar A., Bonilla R. Factores de manejo que afectan la morbilidad y mortalidad en terneros durante los 3 primeros meses de vida en el municipio de San Pedro de los Milagros, Departamento de Antioquia. Trabajo de Grado. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Nacional de Colombia. 1997.
6. Fleenor W. A., Stott G. H. Hydrometer test for estimation of immunoglobulin concentration in bovine colostrum. *Journal Dairy Science*, 63: 973. 1980.
7. Flórez H. Manejo sanitario del ternero neonato. En memorias curso alternativas para mejorar la producción pecuaria en los departamentos del Meta y Guaviare. Corpoica-Plante. C.I. La Libertad. p 7-18. 1998.
8. Flórez, H. Importancia y uso del calostro en bovinos. *Boletín técnico Corpoica*. 30 (4): 1-8. 2000.
9. García J, Albornoz O, Vela D. Determinación de inmunoglobulinas séricas de origen calostrual en terneros recién nacidos. *Ser. Zool. Bol. Téc.* 6, 2: 77-85. 2006.
10. Gómez, M. Morbilidad y mortalidad de terneros menores de tres meses de edad en cinco fincas del Piedemonte Llanero. Trabajo de Grado. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad de los Llanos. 1999.
11. Hadorn U., Blum W. Effects of feeding colostrum, glucose or water on the first day of life on plasma immunoglobulin G concentrations and Gamma Glutamyl transferase activities in calves. *Journal Veterinary Medicine Association*, 44: 531-537. 1997.
12. Hernández T., Olaya B. Caracterización inmunológica y generación de banco de calostro en explotaciones doble propósito en el Piedemonte Llanero. Tesis de grado. Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad de los Llanos. Villavicencio, Meta, 2004.
13. IDEAM. Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales. Sistema de Información Nacional Ambiental. Estación "La Holanda" Municipio de Granada (Meta). 2004.
14. Lakritz J., Tyler J. W., Hostetler D. E., Marsh A. E., Weaver D. M., Holle J. M. Effects of pasteurization of colostrum on subsequent serum lactoferrin concentration and neutrophil superoxide production in calves. *Journal American Veterinarian Research*, 61 (9): 1024. 2000.
15. López M., Melo J., Donado M. P., Oliver. Factores que afectan la morbilidad y la mortalidad en terneros de carne y de doble propósito durante los tres primeros meses de vida en la altillanura colombiana. Trabajo de Grado. Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia Universidad Nacional de Colombia. 1998.
16. ICN Biomedical. Technical Information. Quantitative determination of bovine IgA, IgM and IgG2. Catalog number: 64474, 64473, 64470. 2003.
17. Martínez G., Romero A., Donado M. P., Flórez H. Viabilidad, inmunidad pasiva y mortalidad de terneros de vacas doble propósito en fincas del caribe colombiano. *World Biatrics Congress*. Punta del Este, Uruguay. Book of Abstracts. 94 p. 2000.

18. Parra, J. L. Modelo de asistencia integral pecuaria para pequeños y medianos productores del sistema doble propósito del Piedemonte Llanero. Informe final. Corpoica-Pronatta. 96: 142-147. 2003.
19. Perez E., Noordhuizen J., Van Wuijskhuisse L., Stassen E. N. Management factors related to calf morbidity and mortality rates. *Livestock Production Science*, 25: 79-93. 1990.
20. Perino L. J., Wittum T., Gary R. Effects of various risk factors on plasma protein and serum immunoglobulin concentrations of calves at postpartum hours 10-24. *Journal American Veterinarian Research*, 56 (9): 1144-1148. 1995.
21. Perino L. J. A guide to colostrum management in beef cows and calves. *Veterinary Medicine. Food Animal Practice*, 75-81. 1997.
22. Quigley J. Usando el calostrómetro para medir la calidad del calostro. No. 22: 1-3. 2000. Disponible En: www.americanprotein.com/calf/calfnotes.com
23. Robinson J. D., Stott G. H., Denise S. K. Effects of passive immunity on growth and survival in the dairy heifer. *J. of Dairy Sci.*, 71 (5): 1283-1287. 1998.
24. Sivula N., Ames T., Marsh W., Werdin R. Descriptive epidemiology of morbidity and mortality in Minnesota dairy heifer calves. *Preventive Veterinary Medicine*, 27: 155-171. 1996.
25. Stott G. H. Immunoglobulin absorption in calf neonates with special considerations of stress. *Journal Dairy Science*, 63 (4): 681-688. 1980.
26. Vann R. C., Holloway J. W., Carstens G. E., Boyd M. E., Randel R. D. Influence of calf genotype on colostrum immunoglobulins in *Bos taurus* and *Bos indicus* cows and serum immunoglobulins in their calves. *Journal Dairy Science*, 73: 3044-3050. 1995.
27. Virtala L. Mechor G. D., Grohn Y. T., Erb H. N. Morbidity from non-respiratory diseases and mortality in dairy heifers during the first three months of life. *Journal of American Veterinary Medical Association*. 208: 2043-2046. 1996.
28. Wattiaux, M. A. Importancia de alimentar con calostro. Instituto Babcock para la Investigación y Desarrollo Internacional de la Industria Lechera. Universidad de Wisconsin – Madison. Boletín N°. 28: 109-112. 2001.

Determinación de la calidad fisicoquímica de la leche de ganaderías doble propósito mediante pruebas no convencionales en Colombia

Determination of physicochemical quality of milk from dual purpose herds by unconventional tests in Colombia

Guevara Torres Elmer Fabian¹; Gonzales Patiño Yoan Manuel¹;
Martínez Suárez Manuel² y Vanegas Mora Orlando³

¹MVZ. Unillanos, ²MV. Docente Unillanos y ³Zoot. MSc. Docente Unillanos

manuel.martinez@unillanos.edu.co

Recibido 20 de Enero 2014, Aceptado 11 de Abril 2014

RESUMEN

Este trabajo se realizó con el propósito de determinar las características fisicoquímicas de la leche (densidad, grasa, acidez y pH) provenientes de ganaderías doble propósito del municipio de Villavicencio Meta, Colombia, mediante métodos sencillos, prácticos y económicos para establecer dichos parámetros y que puedan ser manipulados por personal con un mínimo de entrenamiento. Se seleccionaron cinco fincas escogiendo las vacas que se encontraban en ordeño sin tener en cuenta las que estaban en período calostrual (menor a 6 días posparto), se procedió a recolectar la leche en baldes; seguidamente se homogenizó y posteriormente se envasó en frascos estériles los cuales eran identificados y transportados al laboratorio de la Universidad de los Llanos bajo condiciones de refrigeración para su respectivo análisis. Se les realizó estadística descriptiva con las variables fisicoquímicas, obteniendo promedios, desviación estándar, error estándar, varianza y valores máximo y mínimo. La densidad presentó un alto grado de confiabilidad con el método propuesto; la densidad comparada entre la determinación con el termolactodensímetro 15/15 frente a la no convencional presentó una alta significancia puesto que los valores fueron de varianza similar en igual número de observaciones siendo la media de diferencia mínima. La densidad real es igual a la determinada por el método no

convencional menos 0,004. La confiabilidad fue de 79.8%, siendo el método de densidad propuesto confiable bajo las condiciones ambientales de la zona de estudio. La prueba de grasa presentó un alto grado de confiabilidad mediante el análisis de varianza de regresión, del cual se generó dos fórmulas para la conversión del resultado de la prueba no convencional a porcentaje de grasa de la convencional; asimismo, los datos de la prueba de alcoholimetría y pH mediante análisis de varianza de regresión, fueron significativos en alto grado ($P > 0.0001$) obteniéndose la fórmula de conversión para dicha prueba. $\text{pH convencional} = 5.903 + 0.01023 (\text{alcoholimetría } \%)$. En el análisis de varianza entre los métodos de acidez determinada por la titulación con NaOH 0.1 N y la prueba propuesta mediante alcoholimetría el coeficiente de correlación entre los dos métodos fue bajo, lo cual indica que la prueba de alcoholimetría no es un método confiable para la determinación de la acidez de la leche.

Palabras clave: Leche, grasa, densidad, acidez.

ABSTRACT

This work was performed in order to determine the physicochemical characteristics of milk (density, fat, acidity and pH) from dual purpose herds in the municipality of Villavicencio Meta, Colombia, through simple, practical and economical methods for establishing these parameters and can be handled by personnel with minimal training. Five farms were selected by choosing the cows were milked regardless which were in colostrum period (less than 6 days postpartum), we proceeded to collect milk in buckets; then homogenized and subsequently filled in sterile containers which were identified and transported to the laboratory at the University of the Llanos under refrigeration for examination. Descriptive statistics were performed with the physicochemical variables, obtaining averages, standard deviation, standard error, variance, and maximum and minimum values. The density showed a high degree of reliability with the proposed method; the density compared between the determination with the thermolactodensimeter 15/15 versus

unconventional showed high significance since the values were similar variance equal number of observations and the mean minimum difference. Particle density is equal to that determined by the conventional method not less 0.004. The reliability was 79.8%, the proposed density method reliable under the environmental conditions of the study area. The fat test presented a high degree of reliability by analysis of variance regression, which two formulas for converting the result of the test unconventional fat percentage was generated conventional; also, data from the pH and alcoholometry test by regression analysis of variance were significant in high-grade ($P > 0.0001$) to obtain the conversion formula for the test. conventional $\text{pH} = 5.903 + 0.01023$ (alcoholometry %). In the analysis of variance between the methods of acidity determined by titration with NaOH 0.1 N and the test proposed by alcoholometry the correlation coefficient between the two methods was low, which indicates that the test is not a reliable alcoholometry method for determining the acidity of milk.

Keywords: Milk, fat, density, acidity.

INTRODUCCIÓN

El sector lechero colombiano en su conjunto se ha vuelto más productivo y competitivo, comparando su evolución con estudios 12 años atrás, se aprecia que la productividad de la leche por hectárea aumentó 44% en los sistemas doble propósito y 14% en las lecherías especializadas, este incremento redujo el costo de producción de leche 16% y 10% lo cual se debió al incremento de la carga animal de 15% y 17% en los dos sistemas respectivamente, así como también al incremento de la inversión en infraestructura y equipo en 258% y 37% (mayor número de potreros, mejores pasturas, picadoras de pasto, equipos de riego, e instalaciones) en los dos sistemas respectivamente. Sin embargo, el ingreso neto por hectárea durante este período decreció 27% y 69%, debido a una reducción en el precio de la leche y carne al productor del 22% y 20% en los sistemas de

doble propósito y del 41% y 27% en los sistemas especializados, respectivamente (FEDEGAN, 2003).

La producción de leche en Colombia ha aumentado en forma vertiginosa en los últimos 22 años, pasando de 1.200 millones de litros en 1974 a 5.806 millones de litros en el año 2002, que en medio de una economía llena de dificultades, la ganadería "pasó el año", aunque raspando, con un crecimiento del 0.2%. En el sector lácteo se conservó la tendencia positiva en la producción, con un crecimiento cercano al 4%, que arrojaría un total superior a los 5.800 millones de litros para el 2002, dicho esfuerzo, sin embargo, se vio neutralizado por las importaciones, que alcanzaron las 17.615 toneladas, y también por la dificultad coyuntural en las exportaciones a Venezuela, que frenó la tendencia significativamente positiva exhibida hasta el mes de Septiembre. Aún así, las exportaciones de leche totalizaron 32.813 toneladas en el 2002 (SAM, 2003; FEDEGAN, 2003).

En los últimos años la demanda también ha crecido llegándose a un consumo per cápita aproximadamente de 130 litros/año, muy cerca de lo recomendado por la Organización Mundial de la Salud que es de 150 litros/año, situación en la cual la ganadería doble propósito ha jugado un papel importante en este incremento; aliviando además la baja rentabilidad en las explotaciones del trópico (Suarez *et al.*, 2011).

En el piedemonte del departamento del Meta se tiene una producción anual de 122 millones de litros siendo una industria con amplios horizontes de expansión y un potencial lechero importante para el centro del país por la cercanía y la mejora en las vías de comunicación. Esta potencialidad en cuanto a la producción lechera, hace que en la región de estudio falten criterios de evaluación para una mejor calidad de leche y su comercialización, lo cual indica que debe tecnificarse la producción, mejorando los aspectos tecnológicos además de otros factores como, higiene, sanidad animal y calidad de transporte, que inciden sobre la

calidad de la leche. Debe contarse, además, en un futuro próximo con sistemas de conservación del producto a nivel de finca como también de eficiente transporte a los centros de acopio (Martínez, 1996; Moreno y Molina, 2007)

Tanto en el departamento del Meta, como en el resto del país los productores tienen una problemática en común, la falta de pruebas confiables en finca que permitan evaluar la calidad de la leche que producen, siendo estas asimilables a las pruebas realizadas en el laboratorio. En el subsector lechero la situación durante el año 2002 tuvo connotación crítica por las dificultades de colocación en los mercados, pues el aumento de producción se vio acompañado de una caída de la demanda interna, importaciones excesivas que sólo fueron controladas tardíamente, y dificultades en las exportaciones, todo lo cual generó una situación de sobre oferta y una dramática caída en los precios al productor, estimada, con relación al IPC nacional, en poco más del 9% (FEDEGAN, 2003). Debido a la sobreoferta y a la baja demanda interna es que el productor debe entrar a ser más competitivo mejorando la calidad de la leche mediante la adopción de tecnologías mejoradas y reducción de los costos unitarios de la producción, además de un mejor y más rápido acceso al conocimiento del cambio tecnológico sobre la productividad. Por esto se diseñan las pruebas no convencionales para la determinación de la calidad de la leche, ya que le da al productor la posibilidad de evaluar la leche que produce, con bajos costos y en la finca, sin contar con un laboratorio especializado, lo que le permite ser más competitivo en el mercado y aumentar sus ganancias, además, permite establecer parámetros en la región para compararlos con los parámetros obtenidos por medio de los métodos convencionales aprobados por el ministerio de salud (Salgado *et al.*, 2007).

Debido al valor unitario por prueba convencional realizada en centros especializados, al valor de transporte y conservación de las muestras y el tiempo que se demoran en entregar los resultados de las mismas, se presenta una dificultad para poder evaluar la calidad de la leche que se está produciendo y tomar las medidas apropiadas para corregir cualquier inconveniente que se

presente en la finca. Todos estos factores ocasionan una disminución en la productividad que se traduce en una menor rentabilidad para el ganadero. Estas pruebas se diseñaron para evaluar la calidad de la leche a nivel de campo, siendo realizadas por profesionales y tecnólogos en el área (Cortés *et al.*, 2003).

METODOLOGÍA

El trabajo se realizó en cinco sistemas ganaderos doble propósito (Tabla 1), ubicadas en el municipio de Villavicencio Meta, Colombia, ubicados en el piedemonte oriental de la cordillera Oriental, a una altura de 467 msnm y su temperatura es de 27°C en promedio. La distancia que la separa de Bogotá es de 98 km. La economía se basa en la producción agrícola, centrada en el cultivo del arroz, en la ganadería extensiva y en el comercio, ya que abastece de productos industriales a la región del Llano.

Tabla 1. Características de las cinco fincas del Piedemonte llanero donde se realizó la investigación

1	Posee una extensión de 70 hectáreas; cuenta con 130 bovinos de los cuales 49 están en producción, el promedio de producción de leche es de 6 litros animal/día; la alimentación se basa en pasto <i>Brachiaria decumbens</i> , <i>Brachiaria humidicola</i> , pasto de corte imperial (<i>Axonopus sp</i>), concentrado, sal mineralizada y melaza.
2	Está ubicada en el km 20 vía Puerto López, cuenta con un total de 16 bovinos en producción, el promedio de producción de leche es de 3.75 litros animal/día; la alimentación se basa en pasto <i>Brachiaria decumbens</i> , <i>Brachiaria humidicola</i> ; se encontraron 3 cruces de razas diferentes como son Holstein x Cebú, Pardo x Cebú y Criollo x Cebú.
3	Ubicado en la vereda Buenos Aires, cuenta con una extensión de 22 hectáreas, 12 animales en producción, leche, con un promedio es de 5.5 litros animal/día; los cruces que se encuentran en esta finca son Holstein x Cebú y Pardo x Cebú en una proporción de 50/50 con respecto al total de animales. La alimentación se basa en pasto <i>Brachiaria decumbens</i> , <i>Brachiaria humidicola</i> , <i>Brachiaria dyctioneura</i> y <i>Brachiaria brizantha</i> , pasto de corte imperial (<i>Axonopus sp</i>), maralfalfa, kingrass, concentrado, sal mineralizada, palmaste, ensilaje y melaza.
4	Está ubicado en la vereda Caños negros del municipio de Villavicencio, tiene una extensión de 85 hectáreas, cuenta con 12 animales en

producción, de los cuales 9 son Pardo x Cebú y los 3 restantes Holstein x Cebú. La alimentación se basa en pastoreo de *Brachiaria decumbens* y *humidicola*, pasto de corte (maralfalfa), sal mineralizada y melaza. El promedio diario de producción es de 6.4 litros animal/día.

- 5 Está ubicada en el km. 16 vía Restrepo, posee una extensión aproximada de 120 hectáreas; el número de animales en ordeño es de 11 vacas de las cuales 10 son cruce Pardo x Cebú y una Holstein x Cebú. La alimentación se basa en pastoreo de *Brachiaria decumbens* y *humidicola* en asociación con algunas leguminosas como maní forrajero y Kudzú, sal mineralizada y melaza. El promedio diario de producción por animal es de 8 botellas.
-

Todas las explotaciones cuentan con maquinaria agrícola para las labores de mantenimiento de las praderas y transporte de alimento y sales (Tabla 1), cuatro de las explotaciones cuentan con sala de ordeño techada y piso de cemento (predios 1, 3, 4 y 5), todas las fincas poseen servicio de luz eléctrica, cuatro de estos sistemas cuentan con aljibe y las fincas 4 y 5 tienen a su disposición agua proveniente de caños que cruzan por la finca para surtir de agua los bebederos en los diferentes potreros.

Se tomaron cien muestras (100) de leche correspondientes a igual número de vacas en ordeño que representan aproximadamente el 1.8% de la población de animales doble propósito en ordeño en el municipio de Villavicencio (8343 animales en ordeño (SAM, 2003), Las muestras se tomaron en el momento del ordeño por vaca sana (cuatro cuartos) con exclusión de animales en periodo calostrual, es decir, menores a 6 días posparto, recogiendo la leche en baldes, homogenizándola y posteriormente tomando la muestra correspondiente, la cual fue identificada mediante la utilización de formatos y rotulación siendo transportada al laboratorio de la Universidad de los Llanos bajo condiciones de refrigeración (3°C), llevándose a cabo las pruebas fisicoquímicas por los métodos convencionales (Gerber, 2000) y los propuestos en la presente investigación (Tabla 2). Las muestras se tomaron en época de invierno – verano en los meses de Noviembre, Diciembre, Febrero y Marzo. Para el muestreo de la leche analizada se utilizaron frascos “Gatorade®” de vidrio los cuales fueron previamente esterilizados; el volumen especificado para tales pruebas fue 450 ml.

Estos frascos se aforaron con un volumen constante en el laboratorio para así obtener volúmenes correctos en la realización de las pruebas.

Tabla 2. Pruebas de laboratorio para las diferentes variables fisicoquímicas

Parámetro	Prueba convencional	Prueba propuesta no convencional
Densidad	Densidad (Termolactodensímetro 15/15)	Densidad (Peso en gramos de la muestra sobre el volumen en mililitros)
Grasa	Gerber	Centímetros de grasa formados en la superficie del frasco de gatorade.
Acidez	Porcentaje de ácido láctico. (Titulación con NaOH 0.1 N)	Precipitación con alcohol a diferentes concentraciones V/V
pH	Potenciómetro	Alcoholimetría cuantitativa

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Densidad. La densidad comparada entre la determinación con el termolactodensímetro 15/15 frente a la no convencional presentó valores de varianza similar en igual número de observaciones y el parámetro para la media tuvo una diferencia mínima. Se concluye mediante las pruebas de hipótesis que no existen diferencias entre las técnicas habiéndose corroborado la hipótesis nula y rechazada la hipótesis alterna en la que se formula que las medias son diferentes entre las técnicas. La confiabilidad de la densidad fue de 79,8% siendo el método propuesto confiable bajo las condiciones ambientales de la zona de estudio (Tabla 3). Es de anotar que tanto las pruebas convencionales como las no convencionales pueden estar influenciadas por la manera de medir la densidad como parámetro para evaluar presencia de agua en la leche, puesto que su lectura depende de todos los componentes, incluyendo la grasa, la cual tiene una amplia variabilidad, es decir, a mayor contenido de grasa mayor densidad. La densidad de la leche no debe determinarse cuando la leche está recién ordeñada, sino hasta después de 4 horas; la densidad incrementa gradualmente hasta que

se estabiliza, haciendo la corrección de temperatura a 15°C (Tepal *et al.*, 2006; Vargas *et al.*, 2009).

Tabla 3. Resultados estadísticos de densidad en las pruebas descritas mediante la prueba Z

n = 100; se usa Prueba de Z

Hipótesis:

Ho: No existe diferencia entre las técnicas (nula)

Hi: que las medias son diferentes entre las técnicas (alterna)

Prueba z para medias de dos muestras

	Densidad no convencional	Densidad convencional
Media	1032,1918	1031,983
Mínimo	1029,5	1028,4
Máximo	1035,8	1035,3
Varianza (conocida)	1,49	1,92
Observaciones	100	100
Diferencia hipotética de las medias	0	
z (Zc)	1,130715394	
P(Z<=z) una cola	0,129087499	
Valor crítico de z (una cola)	1,644853476	
Valor crítico de z (dos colas)	0,258174997	
Valor crítico de z (dos colas)	1,959962787	0,05

!Zc! >= Zt = R Ho

!Zc! <= Zt = acepto la Ho

IC99% Límite inferior	1031.87102	1031.61921
Límite superior	1032.51258	1032.34679

Coefficiente de correlación

Densidad convencional	1	
Densidad no convencional	0.7984005	1

El coeficiente de correlación entre pH y alcoholimetría presentó un alto grado de asociación (0,79238) teniendo en cuenta que esta asociación va de -1 a +1, siendo el de mayor asociación los superiores a 0,4; la grasa presentó una alta asociación (0,69619); A diferencia de las dos anteriores variables la acidez presentó una baja asociación (-0,46563) teniendo en cuenta que los valores menores de 0,2 son los de menor asociación en la escala (Tabla 4).

Tabla 4. Coeficiente de correlación de Pearson para grasa, pH, acidez y alcoholimetría para los dos métodos

	pH	acidez	Alcoholi- metría	Prueba convencional	Prueba no convencional
pH	1.00000	0.40107	0.79238	0.04054	-0.18810
Acidez	0.40107	1.00000	-0.46563	-0.27082	-0.12354
Alcoholimetría	0.79238	0.46563	1.00000	0.10950	-0.04218
Grasa prueba convencional	0.04054	0.27082	0.10950	1.00000	0.69619
Grasa prueba no-convencional	0.18810	0.12354	-0.04218	0.69.619	1.00000

Número de muestras = 100

Grasa. Para el análisis estadístico de los valores obtenidos en las pruebas para evaluar grasa fue necesario convertir dichos resultados a una misma unidad (%), ya que la prueba no fue de tendencia normal. Al analizar los anteriores datos se puede determinar que la prueba es altamente significativa, pero los valores de regresión son bajos (0,48522782), sin embargo, los valores obtenidos para la fórmula de conversión son lo suficientemente confiables para hallar valores de grasa en % a partir de los datos de grasa no convencional (%) obtenidos a través de los cálculos matemáticos (Tabla 5). Esto permite tener una confiabilidad alta entre el método no convencional frente a la prueba de determinación de grasa por el método de Gerber, 2000, el cual se fundamenta, en que la grasa de la leche se separa con ácido sulfúrico y la fuerza centrífuga, en unas botellas especiales que permite medir directamente el porcentaje de grasa por volumen, el ácido

primero precipita y disuelve los demás constituyentes de la leche con excepción de la grasa. Al mismo tiempo el ácido digiere la membrana del glóbulo de grasa y eleva la temperatura de la muestra, lo que a su vez disminuye la tensión interfacial (grasa-fase acuosa ácida) y la viscosidad. En estas condiciones la grasa se aglomera y tiende a separarse por la diferencia de su densidad (0.93) con la densidad de la mezcla ácida (1.43). Este método utiliza alcohol isoamílico, el cual ayuda a disminuir la tensión interfacial favoreciendo la ruptura de la emulsión, la separación de la grasa, además previene la sulfonación y carbonización de la misma. El método de Gerber además de ser rápido, requiere menor cantidad de ácido y sus resultados no son afectados por la homogenización. Sin embargo, tiene la desventaja que sus resultados son ligeramente superiores a los obtenidos por otros métodos (Parra *et al.*, 1998; Piñeros *et al.*, 2005).

Tabla 5. Evaluación de grasa mediante regresión y análisis de varianza comparando los dos métodos

Observaciones: 100
 Coeficiente de correlación múltiple: 0,69658296
 Coeficiente de determinación R²: 0,48522782
 R² ajustado: 0,479975043

ANÁLISIS DE VARIANZA					
	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Promedio de los cuadrados	F	Valor crítico de F
Regresión	1	3,896573485	3,896573485	92,3754783	8,45067E-16
Residuos	98	4,133826515	0,042181903		
Total	99	8,0304			
	Coeficientes	Error típico	Estadístico t	Probabilidad	
Intercepto	2,016554724	0,108038425	18,66516226	4,9202E-34	
Grasa método Convencional	0,079215592	0,008241995	9,611216276	8,4507E-16	

$$\text{Grasa convencional} = 2,016554724 + 0,07921559 = \text{Grasa no convencional en porcentaje}$$

Al obtener un valor de regresión bajo se determinó un nuevo R² pero sin la utilización del intercepto, lo cual arrojó los datos consignados en la Tabla 6. Al

utilizar la anterior prueba de R^2 sin la utilización de un intercepto, se comprobó que la prueba es altamente significativa, además se determinó que el R^2 es de alta estimación por medio de la cual se puede obtener una ecuación matemática para hallar grasa de la manera más sencilla y más exacta.

Tabla 6. Determinación de grasa comparando los dos métodos mediante análisis de varianza y de regresión sin intercepto

Observaciones=100
 Coeficiente de determinación R^2 : 0.9797
 R^2 ajustado: 0.9795

ANÁLISIS DE VARIANZA					
	<i>Grados de libertad</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Valor crítico de F</i>
Regresión	1	910.88785	910.88785	4778.36	0.0001
Residuos	99	18.87215	0.19063		
Total	100	929.76000			

	<i>Coefficientes</i>	<i>Error típico</i>	<i>Estadístico t</i>	<i>Probabilidad</i>
Grasa método convencional	0.23015	0.00333	69.13	0.0001

Grasa método convencional = 0.23015 x Grasa método no convencional en porcentaje

pH, Acidez y alcoholimetría. A continuación se presentan los resultados estadísticos obtenidos para la prueba de pH Vs alcoholimetría (Tabla 7). Al analizar la prueba pH comparada con la de alcoholimetría mediante el análisis de varianza se puede determinar que el método convencional y el método propuesto no presenta diferencias entre los valores promedios por lo tanto se puede considerar que existe similitud entre el método no convencional y el método normatizado, con un coeficiente de determinación de 0.627873948. La determinación de pH por el método convencional con el potenciómetro demostró una correlación con el método propuesto de alcoholimetría, precipitándose las proteínas cuando el pH se encuentra entre 6,91 y 6,71 a partir de un alcohol de

86% V/V. Una leche con pH entre 6,7 y 6,62 empieza a coagular con un alcohol de 72% V/V y una leche con pH entre 6,61 y 6,39 coagula con un alcohol de 68% V/V.

Tabla 7. Método de alcoholimetría Vs pH mediante la prueba de análisis de varianza de regresión, comparando los dos métodos

ANÁLISIS DE VARIANZA					
	<i>Grados de libertad</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Valor crítico de F</i>
Regresión	1	0.52285515	0.52285515	165.351649	9.28019E-23
Residuos	98	0.30988385	0.00316208		
Total	99	0.832739			
	<i>Coefficientes</i>	<i>Error típico</i>	<i>Estadístico t</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Inferior 95%</i>
Intercepción	5.903682767	0.06203489	95.1671367	2.2742E-98	5.780576551
Alcoholimetría método no convencional	0.010239975	0.00079633	12.8589132	9.2802E-23	0.008659678

pH método convencional = 5.903 + 0.01023 (Alcoholimetría)

En el análisis de varianza entre los métodos de acidez determinada por la titulación con NaOH 0,1 N y la prueba propuesta mediante alcoholimetría se presentó un bajo coeficiente de correlación entre los dos métodos (Tabla 8), lo cual indica que la prueba de alcoholimetría no es un método confiable para la determinación de la acidez de la leche. Este resultado se pudo presentar debido a las pocas diluciones del alcohol etílico que se efectuaron para las pruebas y al amplio rango que presenta la acidez.

Tabla 8. Método de alcoholimetría Vs acidez mediante el análisis de varianza de regresión comparando los dos métodos

Observaciones=100
 Coeficiente de correlación múltiple: 0.465625493
 Coeficiente de determinación R²: 0.2168071
 R² ajustado: 0.208815336

ANÁLISIS DE VARIANZA					
	<i>Grados de libertad</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Valor crítico de F</i>
Regresión	1	0.005396546	0.005396546	27.12881566	1.05258E-06
Residuos	98	0.019494454	0.000198923		
Total	99	0.024891			

	<i>Coefficientes</i>	<i>Error típico</i>	<i>Estadístico t</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Inferior 95%</i>
Intercepción	0.261007869	0.015559373	16.77496094	1.4553E-30	0.230130801
Alcoholimetría método no convencional	0.001040318	0.000199733	5.208532966	1.05258E-06	0.001436682

$$\text{Acidez convencional} = 0.261007869 + 0.001040318 (\text{Alcoholimetría})$$

CONCLUSIONES

La densidad medida por el método propuesto (no convencional) resultó ligeramente superior a la obtenida por el método convencional debido a la dificultad en la lectura exacta de la misma. La confiabilidad fue de 79.8%, siendo el método de densidad propuesto confiable bajo las condiciones ambientales de la zona de estudio.

El método no convencional para determinar la grasa resulta confiable en leches provenientes de ganado doble propósito propio de la región del Piedemonte llanero colombiano, bajo las condiciones ambientales y de manejo en los cuales se desarrolló esta investigación. Estos datos permiten establecer parámetros de comparación entre la grasa obtenida mediante métodos convencionales y los centímetros de grasa formada en los frascos de recolección, a través de la fórmula obtenida estadísticamente.

El método propuesto para determinar el pH fue altamente significativo, permitiendo así su determinación mediante un sistema sencillo convirtiéndolo al método normatizado a través de la fórmula obtenida en el análisis estadístico.

No se encontró una relación entre las diluciones realizadas del alcohol en diferentes grados de concentración y la acidez obtenida por medio de titulación con NaOH 0,1 N siendo bajos los valores reportados.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Cortés H., Aguilar C., Vera R. sistemas bovinos doble propósito en el trópico bajo de Colombia, modelo de simulación. Archivos de Zootecnia. 52: 25-34. 2003.
2. FEDEGAN. Carta Ganadera, Nº. 78. Bogotá. 2003.
3. Gerber N. Tratado práctico de los análisis de la leche y del control de los productos lácteos. Editorial Dussat. 2000.
4. Hernández A., Blanco O., Ontiveros C. M., Tepal Ch. A., Montero L., Ricardo G. Calidad de la leche. En: Núñez H., Díaz A., Espinosa G., Ortega R. L., Hernández A., Vera A., Ponce R., Medina C., Ruiz F (Eds.). Producción de leche de bovino en el sistema intensivo. INIFAP, Centro de Investigación Regional Golfo Centro, Veracruz, Ver., Méx. 373 p. (Libro técnico Núm. 23). 2009.
5. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, I (IIFAP). Mejora continua de la calidad higiénico-sanitaria de la leche de vaca. Manual de capacitación. Cuajimalpa, Toluca estado de México. 60 p. 2011.
6. Martínez, M. Plan de modernización de la Ganadería en el departamento del Guaviare. Febrero 1996.
7. Montero L., Tepal Ch., Hernández A. L., Ontiveros C., Blanco O. Proceso de ordeño y calidad de leche. En: Vera A., Hernández A., Espinosa G., Ortega R., Díaz A., Roman P., Núñez H., Medina C., Ruiz L. (Eds.). Producción de leche de bovino en el sistema familiar. INIFAP, Centro de Investigación Regional Golfo Centro, Veracruz, Ver., Méx. 384 p. (Libro técnico Núm. 24). 2009.
8. Moreno F., Molina D. Buenas prácticas agropecuarias (BPA) en la producción de ganado de doble propósito bajo confinamiento, con caña panelera como parte de la dieta. FAO, 143 p. 2007.
9. Parra J. L., Martínez M., Pardo H., Vargas S. Calidad fisicoquímica de la leche proveniente de ganaderías sobre doble propósito del Piedemonte de los departamentos del Meta y Cundinamarca, 1998.
10. Piñeros G., Téllez I. G., Cubillos G. A. Calidad como factor de competitividad en la cadena láctea. Proyecto "Estudio de Calidad de la leche producida en la región del Alto Chicamocha". Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia. Bogotá, Colombia. 2005.

11. Salgado R., Simanca J., Gómez G. Amamantamiento restringido y suplementación sobre la eficiencia reproductiva en vacas del sistema doble propósito. Rev. MVZ Córdoba, 12 (1): 934-941, 2007.
12. Secretaria de Agricultura del Meta, (SAM) Análisis socioeconómico del sector agropecuario del Departamento del Meta. Umata, Villavicencio. 2003.
13. Suárez R., Marentes Y., Torres P. Balance de la leche en Colombia año 2011. Disponible En:
<https://www.finagro.com.co/html/cache/HTML/SIS/Ganaderia/2012/BALANCE%20LECHE.pdf>
14. Tepal Ch., Delgado H. M. A., Rojas R. O., Solís C. J. J. Algunas prácticas de higiene para mejorar la calidad microbiológica de la leche de vaca en el estado de Yucatán. UUY U TAN. 2 (6): 9-1. 2006.
15. Vargas M. J., Zaragoza R. J. L., Vargas L. S., Guerrero R. J., Herrera H. J. G. Análisis de la lechería familiar en el estado de Hidalgo. p. 167-198. En: Vargas C. A., Cervantes E. F., Álvarez M. A. (Eds.). La lechería familiar en México. Universidad Autónoma Chapingo, Centro de Investigaciones Económicas, Sociales y Tecnológicas de la Agroindustria y la Agricultura Mundial. Colegio de Posgraduados Campus Puebla, UAM-X, CONACYT. Porrúa, México, D.F. 2009.

**Contribución al conocimiento de la anatomía macroscópica y microscópica
de la tortuga sabanera *Podocnemis vogli***

**Contribution to the knowledge of the macroscopic and microscopic anatomy
of turtle *Podocnemis vogli***

Hernández Henao Javier¹; Gonzales Gómez Mario Alfonso² y
Rodríguez Pulido José Ariel³

¹MVZ. Unillanos QEPD; ²MV. MSc Docente Unillanos y

³Biologo MSc Docente Unillanos

jose.rodriguez.pulido@unillanos.edu.co

Recibido 15 de Enero 2014, Aceptado 18 de Abril 2014

RESUMEN

Se describió la anatomía macroscópica y microscópica de los sistemas digestivo, respiratorio y urogenital de diez ejemplares de tortuga sabanera *Podocnemis vogli* (Pelomedusidae), cinco machos y cinco hembras, también se establecieron relaciones morfométricas de los órganos, la longitud recta de caparazón (LCR), ancho del mismo y peso del animal, estos ejemplares clínicamente sanos, procedentes del zoológico Bioparque los Ocarros de la ciudad de Villavicencio, fueron sometidos a una cuarentena por veinte días en un estanque con zona seca, ubicado en la granja de la Universidad de los Llanos, durante dicho periodo, los animales fueron alimentados con una dieta a base de concentrado que cubría el 70% del requerimiento energético diario (RED), fruta: banano y mango (20% RED) y Bore (10% RED). El sacrificio de los animales se realizó utilizando Pentobarbital Sódico 31,4 mg/kg. En las morfometrías se evaluó la Longitud Recta de Caparazón (LCR), la Longitud del Plastrón (LP), la Longitud de la Sutura Media Ventral (SMV), el Ancho del Caparazón (AC) y el Peso (W). La disección se llevó a cabo extrayendo el plastrón y separando el paquete visceral del caparazón y el estudio histológico de las muestras, se realizó con formalina bufferada al 10%, en una proporción 1:10, con tinción de eosina-hematoxilina tradicional. En todos los procesos se realizaron registros fotográficos bajo condiciones controladas. Los

resultados mostraron similitudes con los estudios hechos para reptiles, y las diferencias no son marcadas ya que conciernen principalmente en ubicación, forma y tamaño, lo cual se relaciona con las características biológicas específicas de la especie. Se hallaron modificaciones histológicas en comparación con los reptiles que marcan diferencias respecto a los epitelios y las tunicas estructurales del tubo digestivo, esta variabilidad se debe al tipo de alimentación y el comportamiento del bolo alimenticio en ese tracto.

Palabras clave: Reptiles, *Podocnemis vogli*, morfología, histología.

ABSTRACT

The macroscopic and microscopic anatomy of the digestive, respiratory, and urogenital systems of ten specimens of turtle *Podocnemis vogli* (Pelomedusidae), five males and five females, were described morphometric relationships of organs were also established, the straight carapace length (LCR), height and weight of the same animal. These specimens were clinically healthy, the animals came from the Ocarros Biopark zoo in Villavicencio city, Meta, Colombia, they were subjected to quarantine for twenty days in a pond with dry area, located on the farm of the University of the Llanos. During this period, the animals were fed a diet of concentrate which covered 70% of the daily energy requirement (DER) Fruit: banana and mango 20% DER, and bore 10% DER. The sacrifice of animals was conducted using Pentobarbital sodium 31.4 mg/kg. The morfometrías evaluated Straight Carapace Length (SCL), plastron length (PL), the length ventral suture media (LVS), the carapace width (CW) and the weight (W). The dissection was carried out by removing the plastron and visceral separation package shell and histology of the samples were realized with 10% buffered formalin, 1:10, and stained with hematoxylin-eosin traditional reading their cuts were performed with light microscopy 3-5 microns. Descriptive statistics (mean, standard deviation) and allometric relationships were used. In all processes photographic records were made under controlled conditions Results showed similarities with the studies made for reptiles, and the differences are not marked, since mainly concerning

location, shape and size, which is related to the specific biological characteristics of the species. Histological changes were found compared with reptiles that make differences in epithelia and structural robes gut, this variability will be due to the type of feeding and behavior of the bolus in this tract.

Keywords: Reptiles, *Podcnemis vogli*, anatomy, histology.

INTRODUCCIÓN

Desde la década del setenta en el siglo pasado, las investigaciones en fauna silvestre se han aumentado, siendo sus objetivos principales la conservación, su asociación con los ecosistemas y factores medioambientales, dentro de este desarrollo se ha profundizado en aspectos relacionados como: censos y dinámicas poblacionales y sus relaciones interespecíficas, sin embargo los reportes en biología enfocada a la morfofisiología son escasos, esta carencia está supeditada a la normatividad que rige la manipulación de estas especies, incrementada por el uso desequilibrado de dicho recurso y por el valor genético y biológico de las mismas (Avendaño, 2002).

La herpetofauna es una rama de investigación que valora tópicos básicos y ecológicos, siendo los primeros de gran interés dado la escasa información disponible. Colombia se caracteriza por su megadiversidad en fauna, siendo la región de la Orinoquia donde se encuentra Villavicencio, una de sus principales exponentes, así Colombia posee más del 14% de especies de tortugas del mundo, siendo la *Podocnemis vogli* endémica de los llanos orientales colombianos y occidentes de Venezuela. Los estudios realizados en esta especie son principalmente en su historia natural, hábitat, distribución y estado ecológico (Rueda y Rueda, 2003).

El desconocimiento de la anatomía macroscópica y microscópica de la fauna silvestre y en especial de las tortugas ha dificultado los planes de conservación y las alternativas productivas generadas a partir de este tipo de fauna. Lo cual impide comprender la fisiología y en su momento la patología macroscópica y

microscópica. Los actuales planes de conservación y de alternativas productivas pecuarias han llevado a los biólogos, veterinarios y zootecnistas al manejo de la fauna silvestre (Ceballos, 2000).

Mundialmente se han generado programas de conservación y manejo *in situ* y *ex situ*, que tienen como objetivo prolongar la existencia de las especies de fauna silvestre más vulneradas, por ser un bien de la naturaleza que se debe proteger para conservar el equilibrio en los sistemas no intervenidos por el hombre. Esto aunado a que la sociedad debe buscar diferentes alternativas que eviten las producciones invasivas que atenten contra la biodiversidad. Los planes de zootecnia de especies nativas son una oportunidad con potencial de producción, pero esta tarea es imposible de cumplir coherentemente si se desconocen las características básicas de las especies, puesto que no sólo por conocer su filogenia, estados poblacionales, distribución geográfica o historia natural se puede realizar un tratamiento médico, o un plan nutricional, o sencillamente un método de restricción (Avendaño, 2002).

Los estudios realizados en anatomía e histología de las tortugas son pocos: entre ellos se caracterizan los realizados en anatomía de tortugas marinas (Wyneken, 2001), anatomía e histología del sistema urogenital del morroco *Geochelone carbonaria* (Faria, 2003), algunas aproximaciones de Oros (2004) sobre anatomía e histología de tortugas del mediterráneo, además de otros estudios aislados en especies no Quelonias.

Los reportes en tortugas de Colombia son bastante escasos, encontrándose aproximaciones sobre la descripción macroscópica y microscópica de los sistemas digestivo y urogenital de la Terecay *Podocnemis unifilis* (Chacon, 2001). Viendo esta carencia de información desde el punto de vista de la biología básica, nace la motivación de la pesquisa sobre las características anatómicas de las especies de reptiles de la zona de la Orinoquía, por ser la tortuga sabanera *Podocnemis vogli*, endémica y para su potencial zootécnico como mascota se escogió esta especie para el presente estudio.

De la escasa información acerca de las características de especies reptilianas, se plantea el desarrollo de este trabajo con el fin de contribuir con el conocimiento de la anatomía macroscópica y microscópica de los sistemas digestivo, respiratorio y urogenital, de esta especie, información que contribuirá a interpretar algunos procesos fisiológicos facilitando la comprensión de los hallazgos de necropsias o biopsias. Las estimaciones de los valores morfométricos y conocimiento de su anatomía son los pilares para la conservación de esta especie frente a la situación actual de la fauna en los bosques y ecosistemas de la Orinoquia. También, se direccionar actividades zootécnicas productivas a través de zoocriaderos, disminuyendo la presión sobre las poblaciones naturales.

METODOLOGÍA

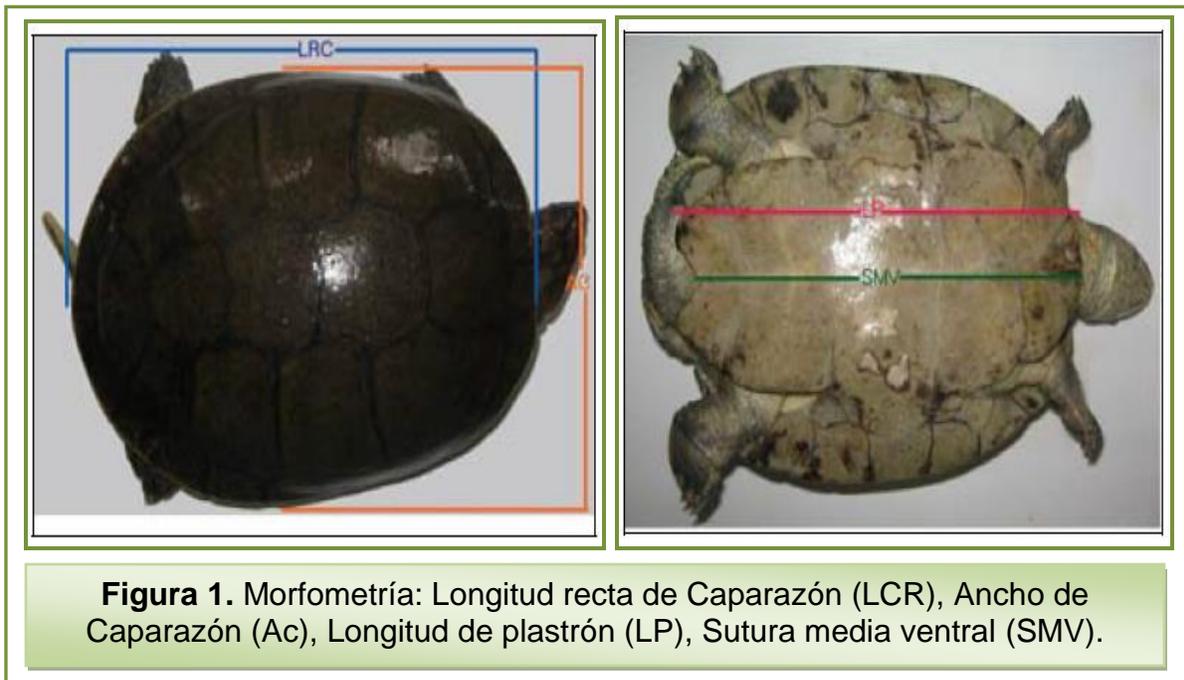
Este trabajo se realizó en los Laboratorios de Biología e Histopatología de la Universidad de los Llanos, municipio de Villavicencio km 4 vía Puerto López, Meta Colombia, con las siguientes condiciones climatológicas medias anuales: temperatura promedio de 28°C, precipitación anual de 4050 mm, humedad relativa del 75% y una altura de 420 msnm.

Fueron utilizados un total de diez tortugas sabaneras (*Podocnemis vogli*) clínicamente sanas distribuidos así: cinco hembras con una longitud recta de caparazón (LRC) de 26.47 cm y cinco machos con una LRC de 19.11 cm en promedio, provenientes del zoológico “Bioparque Los Ocarros” ubicado en esta misma zona. Los animales fueron sometidos a cuarentena por veinte días en la granja de Unillanos sede Barcelona, donde fueron alimentados con dieta a base de concentrado que suministraba el 70% del requerimiento energético diario (RED), fruta: banano y mango que aportaban el 20% RED y bore que suplementaba el 10% RED (Varela, 2003; Dierenfeld, 1996). Los animales fueron vermifugados con Levamisol 10 mg/kg (Martínez, 1994).

Para el sacrificio de los animales se utilizó la técnica descrita por Close, (1995) indicada para reptiles. La anestesia se realizó por administración intramuscular de Pentobarbital sódico a una dosis de 31,4 mg/kg (Moon y Hernández, 2001),

posterior a lo cual se procedió a insertar una aguja afilada a través del foramen mágnium en la articulación atlantooccipital hasta la base del cerebro, para asegurar la rápida destrucción del mismo (Close, 1995).

La morfometría (Figura 1) se baso en las medidas propuestas por Medem en 1975 que consisten en: Longitud Recta de Caparazón (LRC), Longitud de Plastrón (LP), Longitud de la Sutura Media Ventral (SMV), Ancho de Caparazón (AC) y Peso (W). Se retiro el plastrón usando la técnica descrita y aplicada por Chacón (2001), también usada por Wyneken, (2001) y Faria, (2003) la cual consistió en cortar las uniones del puente, y luego incidir las uniones de piel con el peto, que después fue retirado realizando disección roma en dirección craneocaudal, al llegar a la zona pélvica con la ayuda de un martillo se fracturó el pubis ya que este se encontraba fusionado con el plastrón por ser una animal del suborden *Pleurodirae* (Rueda y Rueda, 2003).



Posteriormente se separó el paquete visceral del caparazón, para realizar registros fotográficos con cámara "Canon® AS400 Photoshot", en un cuarto oscuro a distancia de 40 cm, consecutivamente se separaron los sistemas y se

tomaron fotografías en las mismas condiciones anteriormente descritas. Luego de esto se midió cada uno de los órganos (longitud (craneocaudal), ancho (laterolateral) y peso), con los registros fotográficos se asignó un color para cada órgano teniendo como base la guía de colores de Microsoft®, determinado por el programa ColorPic® 4.1, esto para obtener los colores de referencias normales y distinguir estados patológicos por variación de estos.

Para el procesamiento histológico, las muestras se fijaron en formalina bufferada al 10%, en una proporción 1:10, y se destinaron a cortes de 3-5 μm para microscopia de luz y teñidos con hematoxilina-eosina tradicional (Banks, 1996), realizadas en el Laboratorio de Patología de la Clínica Meta. Se realizaron fotomicrográficas de las mismas láminas histológicas mediante microscopio "Leica GME y cámara Canon Photoshop A95".

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los animales utilizados en esta investigación: las hembras tenían una longitud recta de caparazón (LRC) promedio de 26.47 cm y los machos LRC de 19.11 cm, lo cual difiere de lo planteado por Rueda y Rueda en 2003 que era de 23 cm para las hembras y 17 para los machos (Tablas 1, 2, 3, 4, 5 y 6). Esta diferencia se puede dar por origen de las tortugas y a sus condiciones alimenticias y medioambientales de donde procedían (Claude, 2003). Los resultados a partir de la medición, observación y procesamiento de las diferentes estructuras y sistemas de especie estudiada permiten establecer de manera descriptiva y didáctica las siguientes consideraciones con respecto a lo encontrado a la literatura especializada, justificando las diferencias encontradas respecto a dicha literatura.

Sistema digestivo. El sistema digestivo inicia con un pico corneo, el cual abre a la cavidad orofaríngea, no se encuentra un estoma, ya que lo que simula la lengua son los cartílagos faríngeos y la extensión de hueso hioides. En la cavidad se abre la faringe, y el esófago (Figura 2).

Esófago. Inicia en la cavidad orofaríngea, ubicado dorsal a la tráquea, en el plano medio del animal, está delimitado dorsalmente por los músculos cervicales, lateralmente por los músculos cervicales laterales y ventralmente por la tráquea. El esófago tiende a ubicarse ligeramente a la derecha del plano medio, en su última porción. Su forma es cilíndrica, presentando internamente en el primer tercio papilas (Figura 3) de forma piramidal de aproximadamente 3 mm de longitud, el segundo y tercer tercio se presenta con estriaciones cráneo-caudales. La porción caudal limita con el estomago.

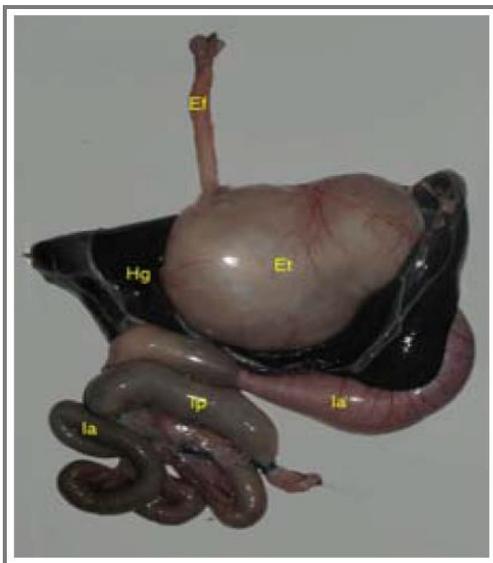


Figura 2. Ef: Esófago, Et: Estomago, Hg: Hígado, Ia: Intestino Anterior, Ip Intestino posterior



Figura 3. Papilas esofágicas

Histología del esófago. El esófago manifiesta dos zonas, la anterior (Figura 4), caracterizada por la presencia de las papilas esofágicas las cuales tienen una mucosa (Mc) con epitelio plano estratificado queratinizado (Ep); una submucosa (Smc) con tejido aerolar laxo, musculatura lisa (Msc) dispuesta en fibras longitudinales internas y circulares externas, y recubierta por una lamina serosa (S). La segunda porción del esófago (Figura 5) se constituye por una mucosa recubierta de un epitelio cilíndrico pseudoestretificado (Ec) acompañado de células caliciformes (Cc), con presencia de agregados linfoides (L) en la submucosa, que se encuentra con tejido conjuntivo menos laxo a la porción papilar, las fibras

musculares están dispuestas de la misma forma que en el esófago anterior. Se encuentra una serosa recubriendo el esófago.

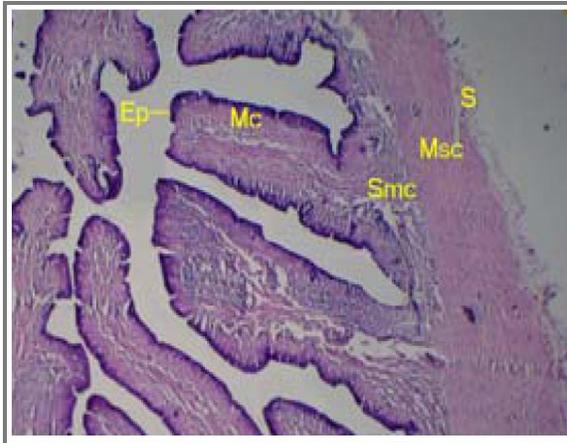


Figura 4. Corte histológico porción papilar del esófago (Aumento 4X).

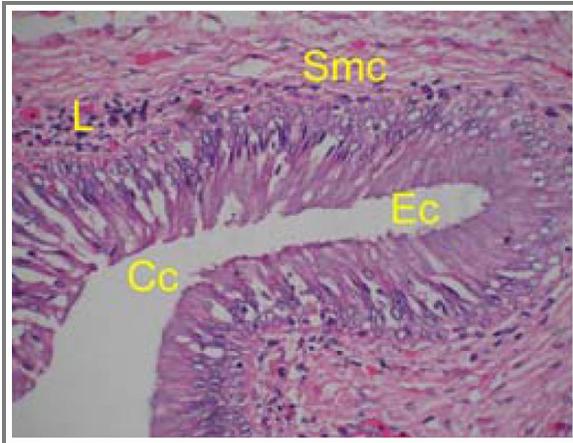


Figura 5. Corte histológico segunda porción del esófago (Aumento 40X).

Estómago. El estómago (Et) (Figura 2) cranealmente inicia en un cardias, ubicado a la izquierda del plano medio, el cual no se aprecia como un esfínter muscular. Tiene forma ovalada lo que no demuestra una curvatura mayor o menor. Dorsalmente está delimitado por los pulmones, y lateralmente por el hígado, ventralmente su porción anterior descansa sobre la membrana celomática y el plastrón, y su porción caudal sobre el hígado, caudalmente se encuentra el intestino anterior y el hígado. En la porción caudal derecha del plano medio en decúbito dorsal se encuentra el píloro sin la presencia de esfínter muscular donde inicia el intestino anterior. Internamente el estómago macroscópicamente no presenta diferencia en si mucosa, salvo algunas estriaciones.

Histología del estómago. Se encontraron dos porciones histológicamente, la anterior (Fúndica) (Figura 6 izquierda) caracterizada por una gruesa lamina mucosa (Mc) conformada por un epitelio cilíndrico simple, con una lámina basal diferenciada y con una muscular de la mucosa bien diferenciada, la submucosa (Smc) está compuesta por tejido denso irregular, con presencia de agregados linfoides cerca a los vasos sanguíneos, las fibras musculares (Msc) están

organizadas en tres direcciones, la capa interna oblicua, la media circular y la externa longitudinal, esta última en contacto con la serosa (S).

La segunda porción (pilórica) (Figura 6 derecha) posee una mucosa con epitelio cilíndrico (Ec) pero menos amplia que la porción anterior, bajo el epitelio tiene una lámina propia de la mucosa (Lpm) conformada por tejido areolar laxo y células linfoides (Cl), que se separa de la submucosa (Smc) por una lamina muscular de la mucosa, la submucosa y la muscular (Msc) se disponen de la misma forma que la porción anterior, al igual que la serosa.

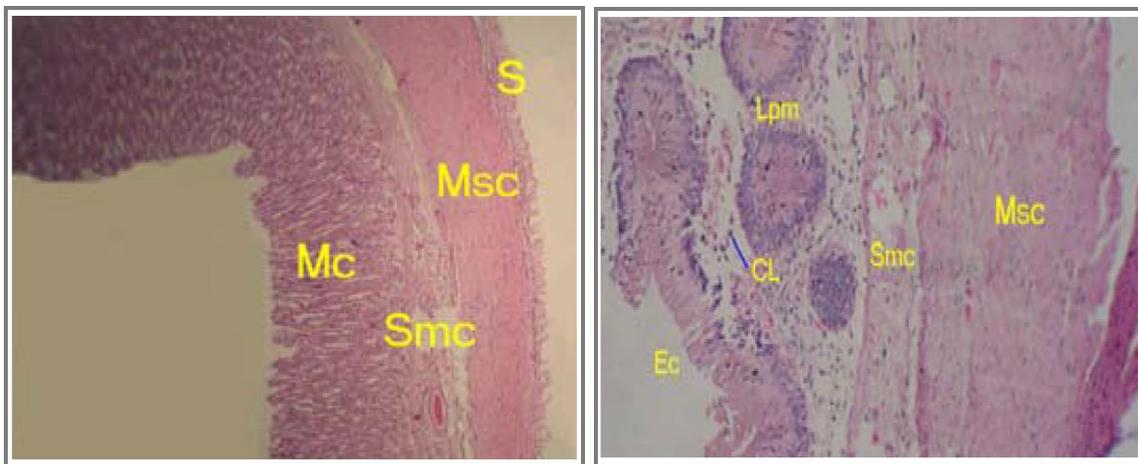


Figura 6. Cortes histológicos de estómago; porción fúndica (izquierda) y porción pilórica (derecha)

Hígado. La mayor parte del hígado (Figura 7) se encuentra al lado derecho, en el tercio medio de la cavidad celómica, sus extremos laterales están embebidos entre los puentes, se observan cuatro divisiones, la primera derecha (LD), la cual se encuentra en contacto con el pulmón derecho y con la porción derecha del estómago, se caracteriza por ser el más grande de los cuatro lóbulos hepáticos, la segunda porción accesoria (LAcc), se encuentra caudal al lóbulo derecho en contacto con el intestino anterior, los lóbulos restantes se caracterizan por reducir su perímetro en la región media de la cavidad celomática para darle cabida al estómago y se alargan nuevamente para introducirse en el puente izquierdo, estos se diferencian por ser uno parietal (LIP) y otro visceral (LIV).

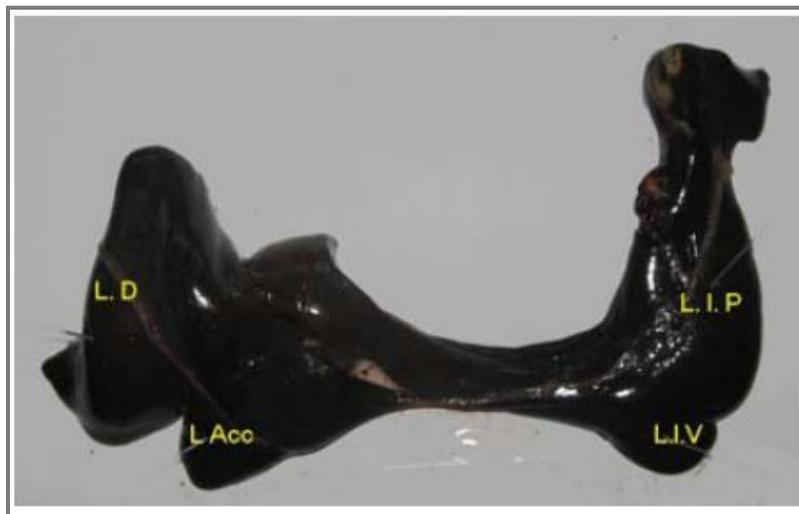


Figura 7. Vista ventral del hígado. L.D: Lóbulo derecho; L.Acc: Lóbulo accesorio; LIV: Lóbulo izquierdo visceral; LIP: Lóbulo izquierdo parietal.

La parte craneal del hígado está delimitada por el puente en la porción derecha en el plano sagital por el estómago y por el puente izquierdo, dorsalmente está en contacto con el estómago, los pulmones, la vesícula biliar y el colédoco, ventralmente con la membrana celomática y así con los músculos abdominales ventrales, y la porción caudal se encuentra en contacto con el duodeno y con el intestino posterior.

Histología del hígado. En el corte del hígado (Figura 8), los hepatocitos se encuentran organizados en cordones radiados, hacia una vena (Vn), recubiertos de tejido conectivo interlobulillar, se localiza la triada portal formada por una arteria (Ar), una vena (Vn) y un conducto hepático (Ch), una característica predominante es la presencia de pigmentos (melanina) anexos a los vasos sanguíneos, depositados por los melanomacrófagos (Mn).

Colédoco. El conducto colédoco (Co) (Figura 9), de forma cilíndrica, está ubicado dorsalmente al hígado, adherido en su primer cuarto a este, se encuentra entre los lóbulos derecho (LD) y accesorio (L.Acc) del hígado, delimitándose cranealmente con la vesícula biliar (VB), lateralmente y ventralmente con el hígado, su ubicación

es a la derecha del plano medio, caudalmente delimitada con el intestino anterior (Ia), insertándose en el primer séptimo de este.

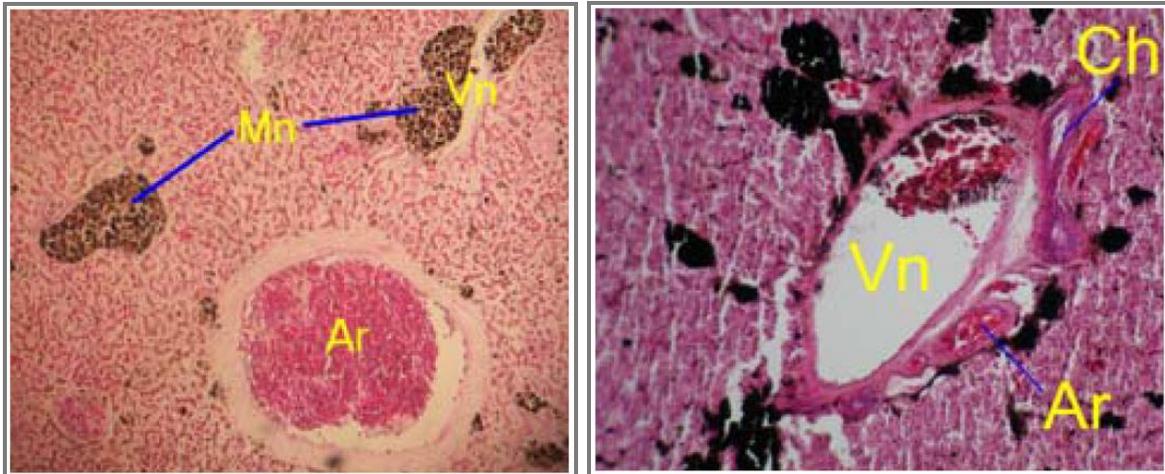


Figura 8. Corte histológico de hígado; Melanomacrófagos y arteriola hepática (izquierda); Triada portal (derecha)



Figura 9. VB: Vesícula biliar; Lacc: Lóbulo accesorio; LD: Lóbulo derecho; Co: Colédoco; Ia: Intestino anterior.

Histología del colédoco. El colédoco (Figura 10) tiene una mucosa caracterizada por un epitelio cilíndrico simple (Ec), sustentando sobre una lamina propia (Lp) que presenta varios conductos y células linfoides. La submucosa (Smc) conformada por tejido conectivo denso irregular, alberga agregados linfoides, la lamina muscular lisa (Msc) está organizada por paquetes musculares circulares principalmente, y finalmente se recubre con una túnica serosa (Se).

Vesícula biliar. La vesícula biliar (VB) (Figura 9) se encuentra topográficamente ubicada dorsal a la unión de los lóbulos derecho (LD) y accesorio (LAcc) del hígado, a la derecha del plano medio, íntimamente adherida a este órgano, su borde craneal se relaciona con el estómago, y su parte caudalmente se encuentra unida al conducto colédoco (Co).

Histología de vesícula biliar. La arquitectura de la vesícula biliar (Figura 11) está conformada por una mucosa, con un epitelio cilíndrico pseudoestretificado (Ep), al igual que la submucosa (Smc) se encuentra con agregados linfoides (Al), cubiertas por una gruesa capa muscular (Msc) y por último una serosa, el tejido vesical se aprecia con pliegues ya que se encuentra relajado, es decir sin contenido biliar.

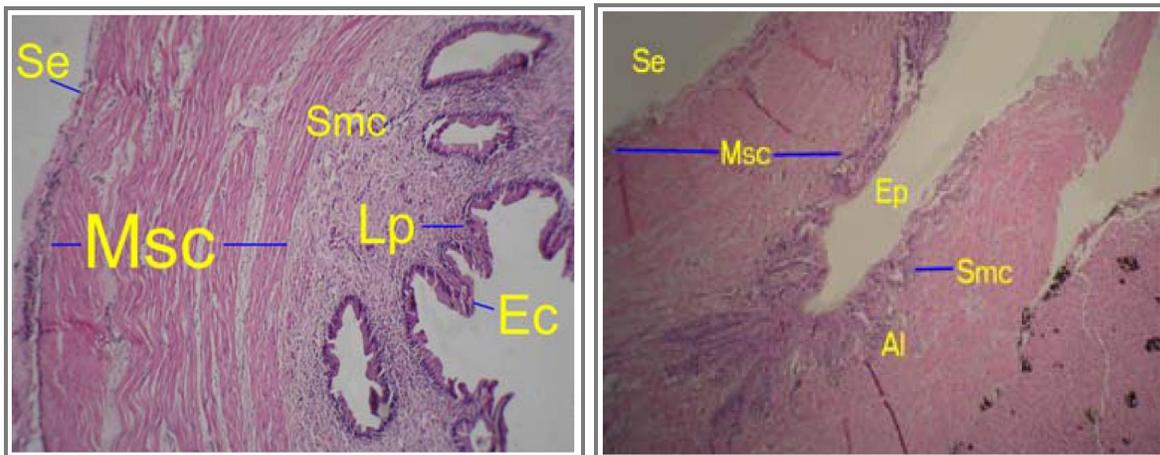


Figura 10. Corte histológico del colédoco

Figura 11. Corte histológico de vesícula biliar

Páncreas. El páncreas (Pr) (Figura 12) se encuentra en posición craneal del tercer séptimo del intestino anterior, adherido íntimamente a este, impidiendo observar

los conductos pancreáticos (CP), sus limitantes son el intestino anterior, su forma es cónica con invaginaciones, situándose la base de este en la porción derecha de la cavidad celómica y el ápice hacia la línea media del animal.



Figura 12. Izquierda: Páncreas (Pr); Intestino anterior (Ia); Hígado (Hg); Estómago (Eg). Derecha: Conducto Pancreáticos (CP).

Histología de páncreas. El páncreas es un órgano parenquimatoso (Figura 13), está conformado por dos zonas una cortical (Cz) y una medular (Md), en las cuales se encuentran islotes (Ip) y acinos (Acp) pancreáticos, con células centroacinares (Cca) y conductos pancreáticos, acompañados de conductos interlobulillares y vasos sanguíneos.

Intestino anterior. El intestino anterior (Ia) (Figura 2) se encuentra ubicado caudal al hígado y al estómago distribuido en la cavidad celómica, estando la mayoría inclinado hacia la derecha de la cavidad, su parte dorsal limita con los pulmones y riñones, lateralmente con los ovarios y los oviductos en las hembras, y en los machos con las paredes celómicas, la porción caudal limita con la vejiga urinaria y con las bolsas cloacales, y ventralmente con el plastrón. Su forma se caracteriza por ser cilíndrica siendo el primer séptimo de mayor calibre, el cual se une cranealmente al estómago en el píloro, a la izquierda del plano medio, posterior a

esto se dirige hacia la región derecha de la cavidad, donde vira en forma de asa para alojar el páncreas, posteriormente realiza una serie de sigmas para alojarse en el intestino posterior en una porción dorsal de la cavidad.

Histología de intestino anterior. El intestino anterior (Figura 14) presenta una mucosa (Mc) con epitelio cilíndrico simple con presencia de células caliciformes, esta se soporta en la muscular de la mucosa, esta forma vellosidades relativamente cortas, la submucosa (Smc) alberga glándulas y se aprecian criptas (Lieberkühn), allí se aprecian agregados linfoides, es seguida de dos laminas musculares (Msc) una interna y otra externa, recubiertas por una serosa (S).

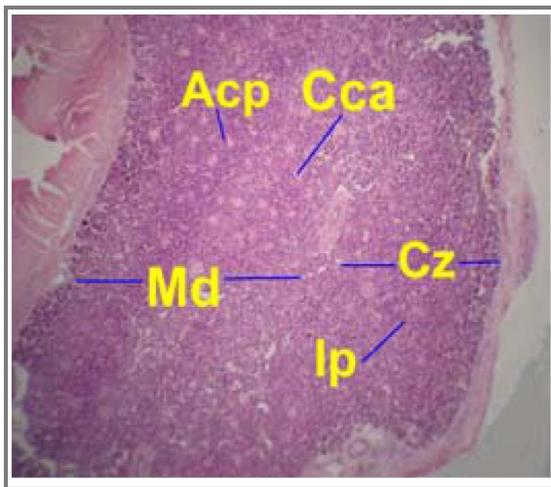


Figura 13. Corte histológico del páncreas 4X

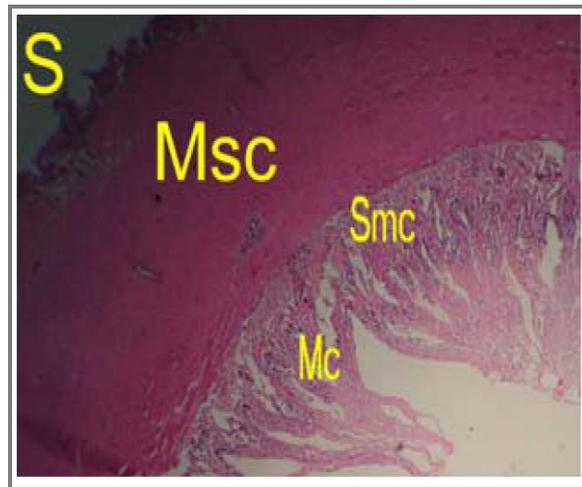


Figura 14. Corte histológico del Intestino

Intestino posterior. El intestino posterior (Ip) (Figura 2) se encuentra en la línea media de la cavidad celomática, iniciando dorsalmente en el intestino anterior y ubicándose bajo la porción posterior de los pulmones, para dirigirse caudalmente hasta la cloaca donde desemboca. Inicia con una dilatación en forma de bolsa mas no en un ciego, ya que no posee unas válvulas delimitadas, posteriormente se disminuye su calibre para por último dilatarse nuevamente antes de ingresar en la cloaca.

Histología del intestino posterior. La mucosa del intestino posterior (Figura 15) se caracteriza por tener unas vellosidades poco prominentes, cubierta por un

epitelio cilíndrico (Ec) simple acompañado de células linfoides, soportadas en una lamina muscular de la mucosa (Ms M), la submucosa (Smc) está formada por tejido conectivo denso irregular, con agregados linfoides, la capa muscular (Ms) es de menor calibre a la presente en el intestino anterior, sin una orientación definida de sus fibras, también está presente una capa serosa.

Tabla 1. Morfometría sistema digestivo

Órgano	Largo (cm)	Ancho (cm)	Peso (gr)
Esófago	9,12 ± 1,77	0,9 ± 0,18	4,25 ± 2,04
Estómago lleno	5,85 ± 1,98	7,99 ± 2,21	64,67 ± 42,52
Estómago vacío	6,22 ± 1,86	8,31 ± 2,31	19,61 ± 9,58
Hígado	9,32 ± 1,48	15,99 ± 3,03	85,78 ± 43,48
Colédoco	2,91 ± 0,87	0,34 ± 0,11	0,26 ± 0,18
Vesícula biliar	3,08 ± 0,62	0,95 ± 0,39	1,36 ± 0,92
Páncreas	5,32 ± 1,46	0,98 ± 0,25	1,26 ± 0,77
Intestino anterior lleno	70,79 ± 19,49	1,15 ± 0,28	42,90 ± 26,86
Intestino anterior vacío	70,76 ± 19,51	1,15 ± 0,28	28,80 ± 13,22
Intestino posterior	11,40 ± 3,22	1,88 ± 0,59	7,41 ± 4,06

Tabla 2. Relación porcentual alométrica sistema digestivo

Órgano	L/LRC (%)	L/Plastrón (%)	L/SMV (%)	AnO/An (%)	PO/Pan (%)
Esófago	36,30 ± 3,98	44,14 ± 4,37	46,16 ± 5,02	5,41 ± 1,31	0,27 ± 0,05
Estómago lleno	25,47 ± 6,09	28,05 ± 6,69	29,32 ± 7	52,71 ± 10,76	4,69 ± 2,88
Estómago vacío	27,03 ± 4,68	29,74 ± 5,09	31,08 ± 5,35	49,67 ± 11,58	1,29 ± 0,31
Hígado	41,26 ± 5,40	45,47 ± 6,57	47,55 ± 7,22	94,56 ± 4,49	5,37 ± 0,57
Colédoco	12,76 ± 3,22	14,05 ± 3,59	14,68 ± 3,77	1,99 ± 0,45	0,02 ± 0,01
Vesícula biliar	13,65 ± 2,54	15,04 ± 2,89	15,74 ± 3,23	5,52 ± 1,72	0,08 ± 0,04
Páncreas	23,13 ± 3,48	25,45 ± 3,74	26,60 ± 3,96	5,74 ± 1,25	0,07 ± 0,03
Intestino ant. lleno	311,08 ± 62,61	340,29 ± 70,5	354,03 ± 74,43	6,89 ± 0,85	2,53 ± 1,06
Intestino ant. vacío	310,30 ± 62,94	341,56 ± 69,52	356,85 ± 72,42	6,76 ± 0,83	1,86 ± 0,34
Intestino posterior	49,71 ± 9,05	54,64 ± 9,68	57,14 ± 10,39	11,15 ± 3,18	0,48 ± 0,18

L/LRC: Largo del órgano / Longitud Recta de Caparazón * 100; L/Plastrón: Largo órgano / Longitud de Plastrón; L/SMV: Largo órgano / Sutura Media Ventral; AnO/An: Ancho órgano /Ancho animal * 100; PO/Pan: Peso órgano / Peso animal * 100

El sistema digestivo se caracterizó por poseer arquitectura similar a la descrita en otros reptiles, manteniendo el patrón del tubo digestivo, conformado por tunicas mucosas, submucosa, muscular y el recubrimiento por una capa serosa (Chacón, 2001; Oros, 2004). Una cualidad permanente es la presencia de tejido linfoide

ubicado en las tunicas mucosa y submucosa, el cual cumple la función de ser la tercera barrera inmunitaria después del moco y el epitelio (Banks, 1996), también se observa una orientación definida de sus fibras y una capa serosa.

La notable división del esófago en dos secciones con características histológicas y morfológicas distintas se encuentra directamente relacionado con su función, ya, que las papilas con su epitelio plano estratificado queratinizado y su musculatura recubierta por la capa serosa en la primera zona, están directamente relacionadas con funciones mecánicas que favorecen el transporte del bolo alimenticio. Por otro lado, el epitelio cilíndrico ciliado pseudoestratificado, las células caliciformes y los agregados linfoides en la submucosa de la segunda zona (Chacón, 2001; Oros, 2004), se encuentran involucrados con funciones particulares de equilibrio osmótico y barreras inmunitarias.

Respecto a la distribución uniforme del estómago en la cavidad celómica, se difiere con lo reportado por Oros, (2004) quien reporta su ubicación a la izquierda; por otro lado, se encuentra similitud a lo sugerido por Chacón, (2001) respecto a la no presencia del marco plicatus. En el estudio histológico se vislumbraron dos porciones diferenciadas por su mucosa, lo cual no concuerda con lo planteado por Oros, (2004) ya que se encontró epitelio plano característico de la región cardinal manteniéndose las regiones fúndica y pilórica.

El intestino anterior, posee una longitud que corresponde al $311,08 \pm 62,21\%$ de la LRC lo cual difiere de lo descrito por Oros, (2004) para tortugas marinas, quien plantea que es de escasa longitud, lo cual es justificable según los hábitos alimenticios de la especie (Rueda y Rueda, 2003). Se encontraron similitudes en la organización de los tejidos, aunque se determinó de manera específica las divisiones del intestino anterior.

El hígado se presentó como un órgano de gran tamaño representando el $41,26 \pm 5,4\%$ de la LRC, el $94,56 \pm 4,49\%$ del ancho y $5,377 \pm 0,57\%$ del peso (Tablas 1 y 2), lo que fortalece lo descrito por Chacón, (2001) para la tortuga terecay, pero a diferencia de este autor, los resultados de este estudio indicaron que este órgano

era tetralobulado y no bilobulado. La presencia de melanomacrofagos y cúmulos de melanina podría estar relacionado con la inmunidad celular que se describe para peces y anfibios como respuesta a lesiones tisulares (Haugarvoll, 2004), o a la destrucción, detoxificación o reciclaje de materiales endógenos o exógenos, incluyendo agentes infecciosos (Vogelbein *et al.*, 1987; Haaparanta *et al.*, 1996), ninguno de estos autores caracterizó el colédoco, aporte que se da en el presente trabajo.

La vesícula biliar se encontró ubicada entre los lóbulos derecho y accesorio, aportando a lo descrito por Chacón, (2001) no se encontraron diferencias de la conformación histológica, con las reportadas con este autor, siendo un epitelio cilíndrico pseudoestratificado, lo cual es compatible con su función de transporte de las sustancias biliares (Banks, 1996).

El páncreas esta adosado al intestino teniendo no un conducto (Wyneken, 2001) sino dos (Slack, 1995; Kardong, 1999), y no se encuentra unido al bazo (Oros, 2004), fortaleciendo lo descrito por Chacón, (2001) se observaron islotes pancreáticos. El intestino posterior, no presentó divisiones macroscópicas notables (Oros, 2004), ni cintas cólicas (Wyneken, 2001).

Sistema respiratorio

El sistema respiratorio (Figura 16) se inicia en las narinas externas, la parte posterior ingresa por las internas a la orofaringe, donde en su base se encuentran las estructuras faríngeas (Fg), y donde se abre la tráquea (Tr) en la glotis.

Tráquea. (Tr) (Figura 16) Inicia al finalizar los cartílagos faríngeos y laríngeos (Cricoides, Tiroides y Aritenoides) como un tubo cilíndrico de anillos cartilaginosos, se ubica ventral al esófago, lateral y dorsal a los músculos cervicales y se dirige dorsocaudalmente al entrar en contacto con el estomago, se bifurca en los bronquios a nivel de las ultimas vertebraes cervicales.

Histología de la tráquea. La tráquea (Figura 17) está conformada en su mucosa por un epitelio cilíndrico pseudoestratificado ciliado (Ep) con presencia de células

caliciformes (Cc), se halla una delgada capa muscular de la mucosa (Ms M), seguido de una capa de cartílago hialino, posteriormente se encuentra una capa de musculatura lisa (MSC), y finalmente se percibe una túnica serosa (S).

Bronquios. (Br) (Figura 16) Son dos tubos anillados cartilaginosos, que nacen en la bifurcación traqueal y se insertan en los pulmones, ubicados dorsalmente al estómago, en contacto lateral con los arcos aórticos y ventral con el corazón.

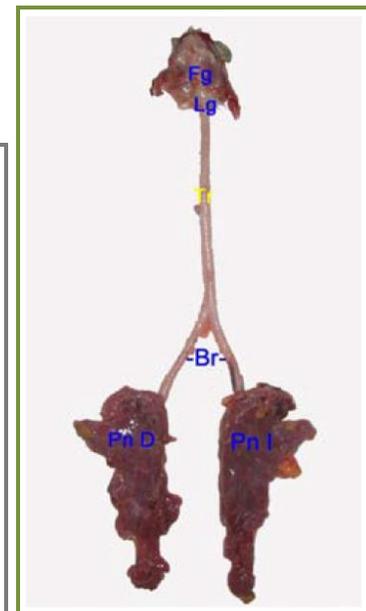
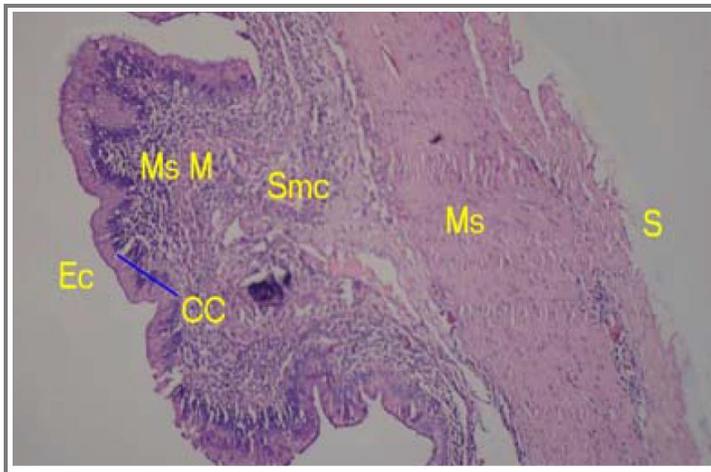


Figura 15. Corte histológico Intestino posterior 10X

Figura 16. Lg: Laringe; Fg: Faringe; Tr: Tráquea; Br: Bronquios; PnD: Pulmón derecho; PnI: Pulmón izquierdo

Histología de bronquios. Los bronquios (Figura 18) histológicamente son similares a la tráquea con la diferencia que estos poseen una zona en la cual el cartílago hialino (Ch) no cubre completamente la circunferencia bronquial y allí se aloja musculatura lisa (LM).

Pulmones. Los pulmones (Pn) (Figura 16) inician en los bronquios en el primer tercio de la cavidad celomática, se despliegan hasta el inicio de primer tercio de la misma. La parte dorsal de estos órganos están adheridos al caparazón, la lateral y caudal están en contacto con los puentes, hasta cubrir los riñones, ventralmente su zona anterior está en contacto a la derecha del hígado, y a la izquierda con el estómago, su porción media entra en contacto con los mesenterios y su porción

posterior con los riñones y con las gónadas. La fracción más craneal, y la mas caudal modifican su parénquima siendo menos denso, simulando un enfisema.

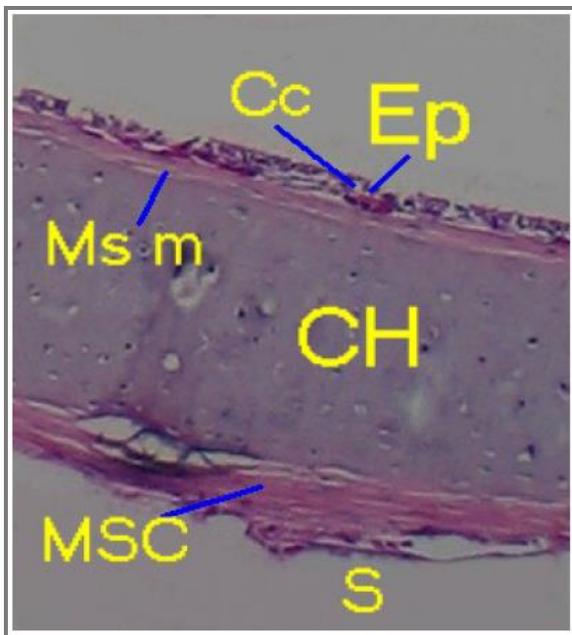


Figura 17. Corte histológico de tráquea 40X

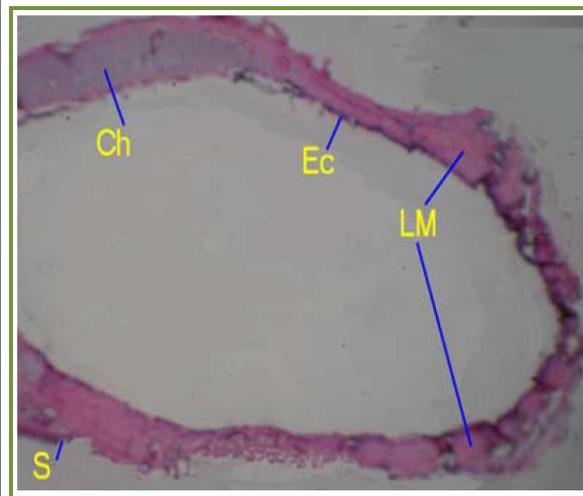


Figura 18. Corte histológico de bronquio 4X

Histología del pulmón. Los pulmones poseen estructuras de intercambio gaseoso amplias, los faveolos (Fv) (Figura 19), en los cuales se encuentra un epitelio plano simple (Ep), circundado por poco tejido interfaveolar conectivo denso irregular (Tc), acompañado de fibras musculares lisas (MI), en algunas porciones se aprecia cartilago hialino (Ch). Dentro de los pulmones se observan los bronquiolos (Brl) con epitelio cubico simple. Es notable en el primer corte, alta presencia de células eritrocitarias y en el segundo de tejido vascular.

Tabla 3. Morfometría sistema respiratorio

Órgano	Largo (cm)	Ancho (cm)	Peso (gr)
Tráquea	7,76 ± 1,37	0,54 ± 0,09	0,65 ± 0,25
Bronquio derecho	4,08 ± 1,02	0,45 ± 0,07	0,24 ± 0,13
Bronquio izquierdo	4,12 ± 0,66	0,47 ± 0,09	0,22 ± 0,16
Pulmón derecho	10,70 ± 2,33	3,93 ± 0,71	9,76 ± 5,38
Pulmón izquierdo	10,44 ± 2,31	4,00 ± 1,15	9,57 ± 4,81

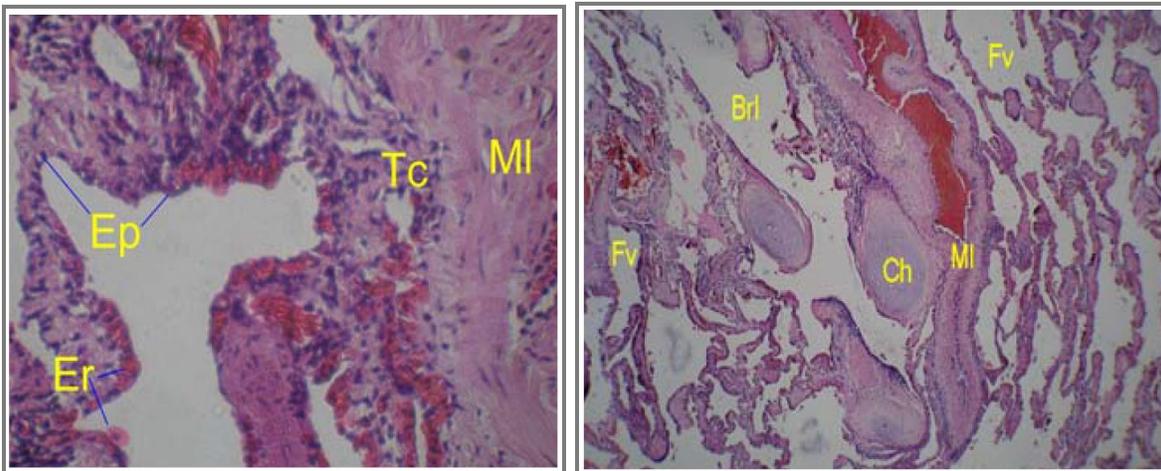


Figura 19. Cortes histológicos de pulmón. Derecha: Flaveolo 40X. Izquierda: parénquima pulmonar.

Tabla 4. Relación porcentual alométrica sistema respiratorio

Órgano	L/LRC (%)	L/Plastrón (%)	L/SMV (%)	AnO/An (%)	PO/Pan (%)
Tráquea	34,07 ± 1,47	37,52 ± 2,25	39,22 ± 2,7	3,26 ± 0,56	0,05 ± 0,02
Bronquio derecho	17,73 ± 2,06	19,50 ± 2,13	20,37 ± 2,22	2,69 ± 0,53	0,02 ± 0,01
Bronquio izquierdo	18,15 ± 1,09	19,98 ± 1,48	20,90 ± 1,78	2,85 ± 0,73	0,02 ± 0,01
Pulmón derecho	47,43 ± 7,87	52,15 ± 8,55	54,54 ± 9,29	23,76 ± 5,17	0,61 ± 0,12
Pulmón izquierdo	45,99 ± 7,55	50,59 ± 8,31	52,93 ± 9,15	23,40 ± 4,1	0,61 ± 0,11

L/LRC: Largo del órgano / Longitud Recta de Caparazón * 100; L/Plastrón: Largo órgano / Longitud de Plastrón; L/SMV: Largo órgano / Sutura Media Ventral; AnO/An: Ancho órgano /Ancho animal * 100; PO/Pan: Peso órgano / Peso animal * 100

La tráquea de la especie estudiada representa el 34,07 ± 1,47% de la LRC lo que difiere de Wyneken, (2001) ya que postula que esta estructura es más corta, sus cortes histológicos y los de los bronquios corresponde a lo planteado por Oros, (2004). El pulmón, que representa el 0,61 ± 0,11% del peso del animal (Tablas 3 y 4), está conformado por faveolos, dicha observación indica unas estructuras más simples que los alveolos (Oros, 2004), lo cual manifiesta un área inferior de intercambio gaseoso, esto puede corresponder a un menor consumo de oxígeno comparado con los mamíferos, debido a un metabolismo más bajo (Mader, 1996). Macroscópicamente el pulmón en sus porciones craneales y caudal tienen zonas

menos densas que pueden ser usadas por el animal para mantener la flotabilidad sobre el agua (Kardong, 1999).

Sistema urogenital

El sistema urogenital (Figuras 20 y 21) se inicia con los riñones (Rñ) y finaliza en la cloaca, donde se insertan las bolsas cloacales.

Riñón. Los riñones (Rñ) (Figuras 20 y 21) se encuentran en la parte dorsal dentro de la cavidad celómica en contacto en su borde craneal con los pulmones, en la zona media con la aorta descendente, y su porción caudal con el caparazón, ventral a los riñones se encuentran los intestinos. Se caracterizan por tener forma angular siendo los ángulos craneal y caudal los más agudos, y el ángulo obtuso medial, con presencia de un íleo donde ingresa la arteria renal y salen la vena renal y el uréter (Ur), internamente se observa un cáliz mayor.

Histología del riñón. Los riñones (Figura 22) muestran dos porciones una cortical externa (Cz) y una medular (Md) en las cuales se encuentran los aparatos yuxtaglomerulares, conformados por glomérulos (Gl) de un tamaño reducido y en pocas cantidades, y una capsula de bowman (Cb) también reducida, que posee un epitelio plano simple. Se observa una alta presencia de túbulos contorneados estrechos (Tb), con tejido cubico simple, que difieren de los colectores de mayor calibre y de las asas de Henle (AH).

Uréteres. Los uréteres de forma cilíndrica, se ubican mediales a los riñones de donde se originan, para descender de manera caudoventral hasta insertarse en el borde dorsal de la vejiga urinaria.

Histología del uréter. Los uréteres (Figura 23) presentan un epitelio cubico simple (Ecs) acompañado de tejido conectivo denso irregular, con agregados linfoides (Al) y con una capa muscular (Msc) poco definida.

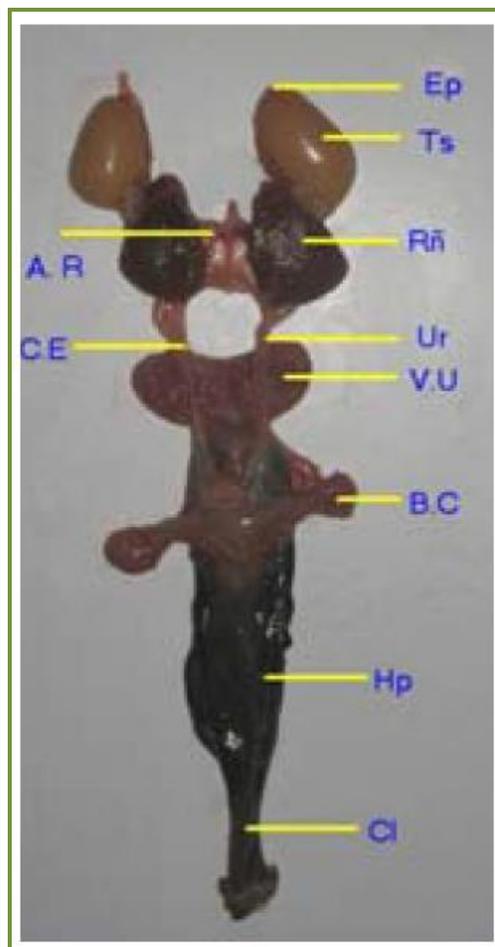
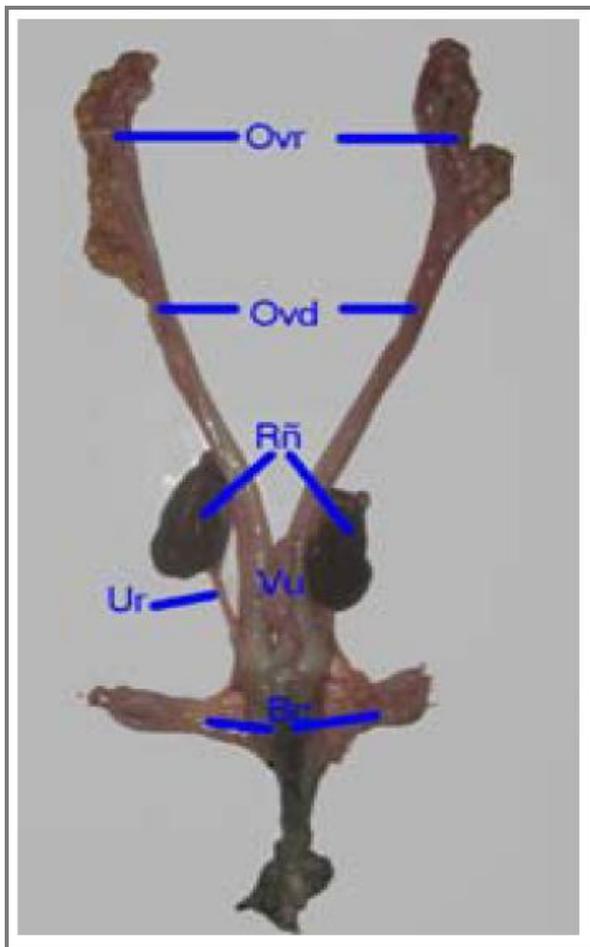


Figura 20. Sistema urogenital hembra. Ovr: Ovarios; Ovd: Oviductos; Rñ: Riñones; Ur: Uréter; Vu: Vejiga urinaria; Bc. Bolsas cloacales

Figura 21. Sistema urogenital hembra. Ovr: Ovarios; Ovd: Oviductos; Rñ: Riñones; Ur: Uréter; Vu: Vejiga urinaria; Bc. Bolsas cloacales

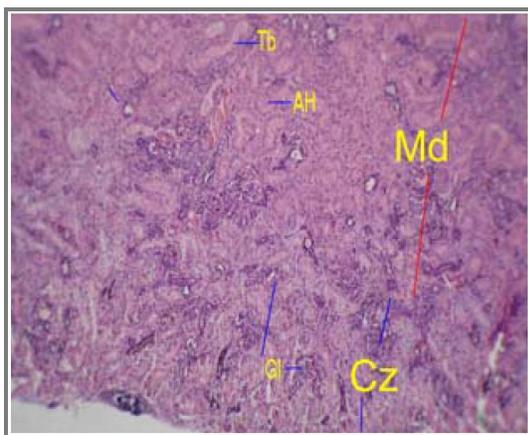
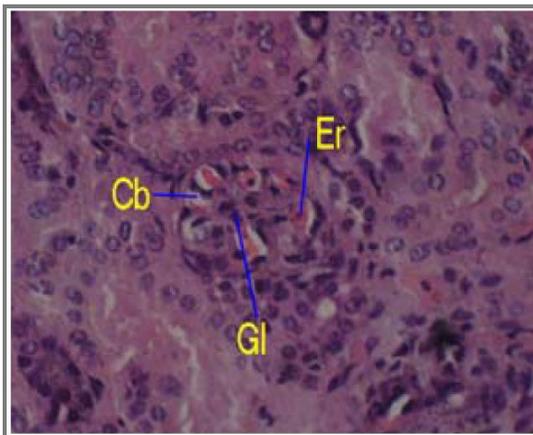


Figura 22. Corte histológico de riñón; Izquierda: aparato yuxtaglomerular 40X; Derecha: Parénquima renal 4X

Vejiga urinaria. La ubicación de la vejiga urinaria (Vu) (Figuras 20 y 21) cordiforme, es ventral, su porción anterior está en contacto dorsalmente con los intestinos y ventralmente con los músculos abdominales, teniendo su inserción en la cloaca sobre el pubis. Se caracteriza por tener una pared elástica la cual se encontró dilatada y contenida de líquido.

Histología de la vejiga urinaria. La vejiga (Figura 24) está conformada por epitelio de transición (Et), con agregados linfoides (Al), este tejido se organiza en pliegues vesicales (Pg) debido al estado de la vejiga, dentro del tejido conectivo denso irregular se exhiben fibras de musculatura lisa (MI).

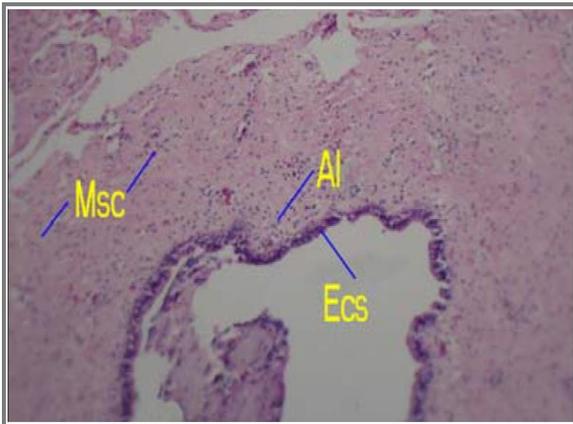


Figura 23. Corte histológico de uréter 4X

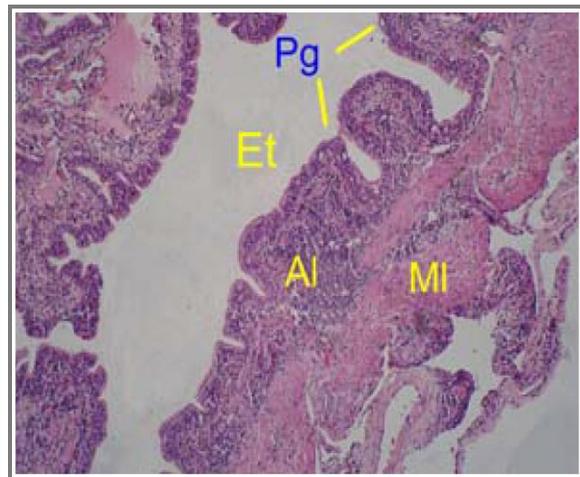


Figura 24. Corte histológico de vejiga urinaria 4X

Ovarios. (Ovr) (Figura 25) Se encontraron en diferentes estados, algunos con folículos y ovocitos, simulando racimos de uvas, se ubican en los planos laterales de la cavidad celómica, su parte craneal está en contacto con los pulmones, donde el izquierdo limita con el borde caudal del lóbulo lateral izquierdo del hígado, su porción medial con los intestinos, la lateral con lo oviductos y con las paredes del celoma.

Histología de ovarios. En los ovarios (Figura 26) se presentan dos zonas una cortical y una medular difusa, en los ovocitos se encuentra una teca interna (TI) y

una externa (TE) acompañados de la región germinal con células germinales, organizadas sobre un tejido conectivo denso irregular, tejido aerolar laxo adiposo (TA).

Oviducto. (Ovd) (Figuras 20 y 27) se encuentra en la posición lateral del tercer tercio del celoma, localizando su parte medial con los ovarios, la craneal con los intestinos en su porción media, dirigiéndose de manera caudo-medial hasta insertarse en la base de la cloaca.

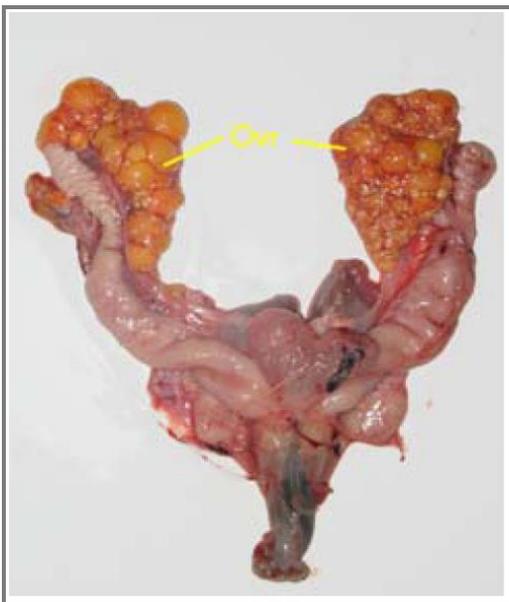


Figura 25. Ovarios: Ovr

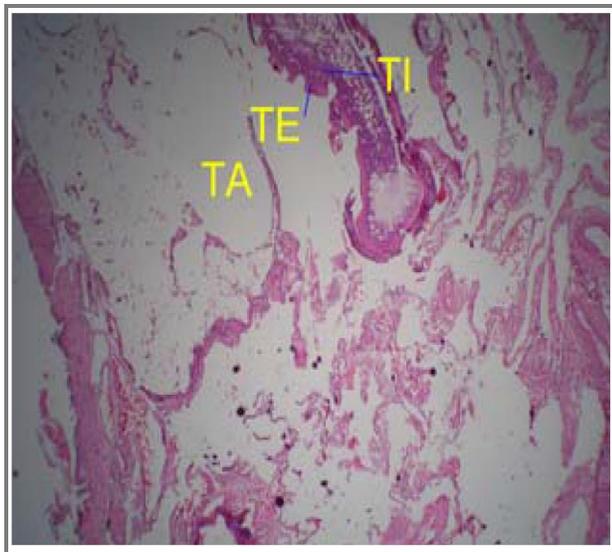


Figura 26. Corte histológico de ovario

Histología de oviducto. El epitelio del oviducto (Figura 28) es cilíndrico pseudoestratificado (Ep) con la exhibición de células caliciformes, siendo característica una zona luminal altamente irrigada (Zi), bajo el epitelio hay un tejido conjuntivo denso irregular y una capa muscular lisa gruesa (Msc).

Testículo. Los testículos, ovados, están ubicados en el tercer tercio de la cavidad celómica, el testículo derecho se encuentra dorsal al intestino anterior y ventral al riñón correspondiente, cranealmente limita con la primera asa del intestino anterior, el izquierdo se encuentra caudal al lóbulo izquierdo visceral del hígado,

ventralmente queda en contacto con la membrana celomática, ambos testículos medialmente limitan con los riñones.

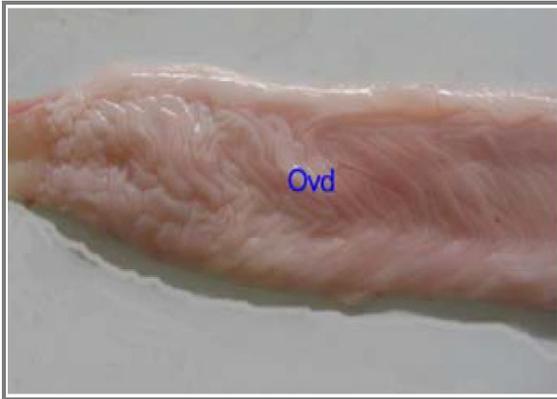


Figura 27. Oviducto: Ovd. Se aprecian los pliegues del oviducto

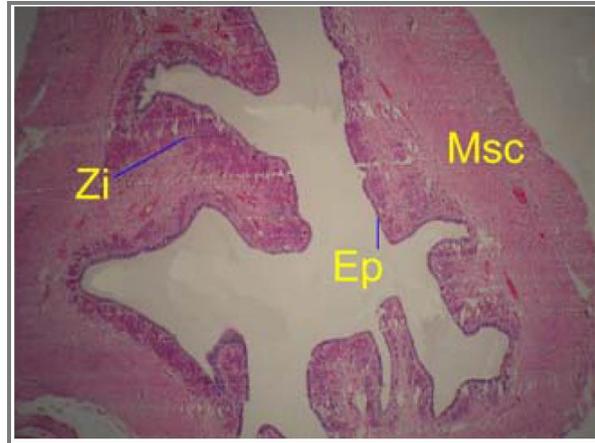


Figura 28. Corte histológico oviducto 4X

Histología de testículo. Los testículos (Figura 29) están conformados por los túbulos seminíferos (Ts), en su lamina basal se encuentran las espermatogonias (Eg) que se van acercando a la luz hasta encontrar los espermatoцитos (Es), ubicado en la lamina germinal y adyacente a éstas las células de Sertoli (Cs), estos túbulos están circundados por poco tejido conectivo y en su intersticio se ubican las células de Leydig (CL), el testículo está cubierto por una túnica albugínea.

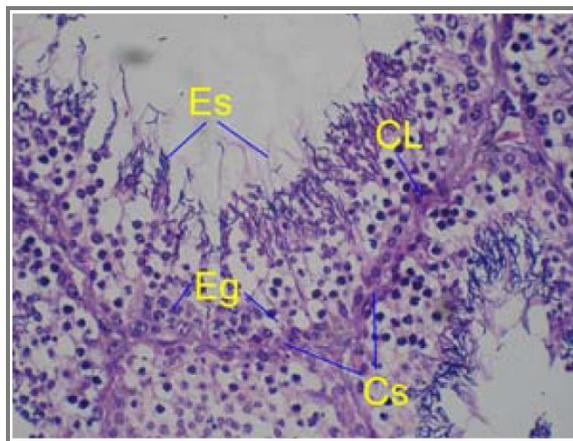
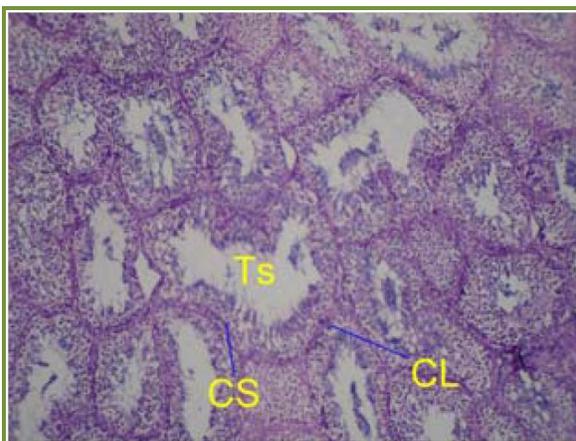


Figura 29. Cortes histológicos de testículo; Izquierda: Parénquima testicular 4X; Derecha: Células germinales y fases germinativas.

Epidídimo. Los epidídimos se originan en el polo craneal de los testículos, dirigiéndose en forma de espiral por su porción medial hasta separarse de estos en el borde caudal, una vez liberados pasan a los conductos espermáticos.

Histología de epidídimo. El epidídimo (Figura 30) está compuesto por un epitelio cilíndrico ciliado pseudoestratificado (Ep), al cual llega la red de testis (Rt), que está conformada por un epitelio cubico simple, estas estructuras están circundadas por fibras musculares (Msc) y tejido denso irregular, el epidídimo está cubierto por una túnica albugínea.

Conducto deferente. Los conductos deferentes de forma cilíndrica, se originan en los epidídimos, y se insertan en la base del hemipene, en contacto con la vejiga.

Histología de conducto deferente. El conducto espermático o deferente (Figura 31) está conformado por un tubo central y otros anexos (Tacc), con epitelio cubico simple (Ep), recubiertos por tejido muscular liso (Msc) y conjuntivo, recubiertos por una túnica albugínea (Ta).

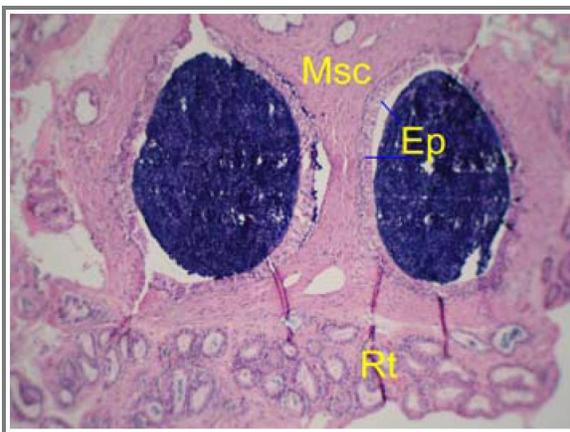


Figura 30. Corte histológico de epidídimo; en la zona superior se encuentra el epidídimo y en la inferior la red de testis.

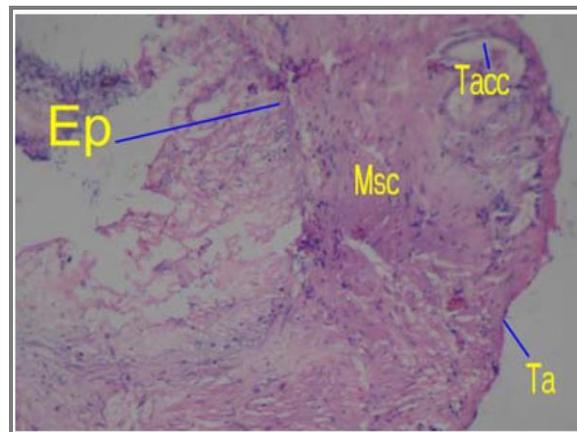


Figura 31. Corte histológico de conducto deferente 4x

Hemipene. El hemipene (Figura 32) de forma cuneiforme, se encuentra alojado en la zona ventral de la cloaca, caracterizado por tener cinco porciones, dos

craneales alargadas (1), dos medidas (2) que se dilatan respecto a las anteriores y una caudal triangular (3), se aprecia orificio en esta última porción.

Histología de hemipene. El hemipene (Figura 33) se encuentra recubierto por una túnica albugínea (Ta), donde se albergan el musculo liso (ML) y tejido conjuntivo denso irregular, presentando tabiques, en los cuales se encuentran zonas vascularizadas (Zv) acompañadas de fibras colágenas y elásticas. Los cuerpos cavernosos poseen epitelio plano simple no queratinizado.

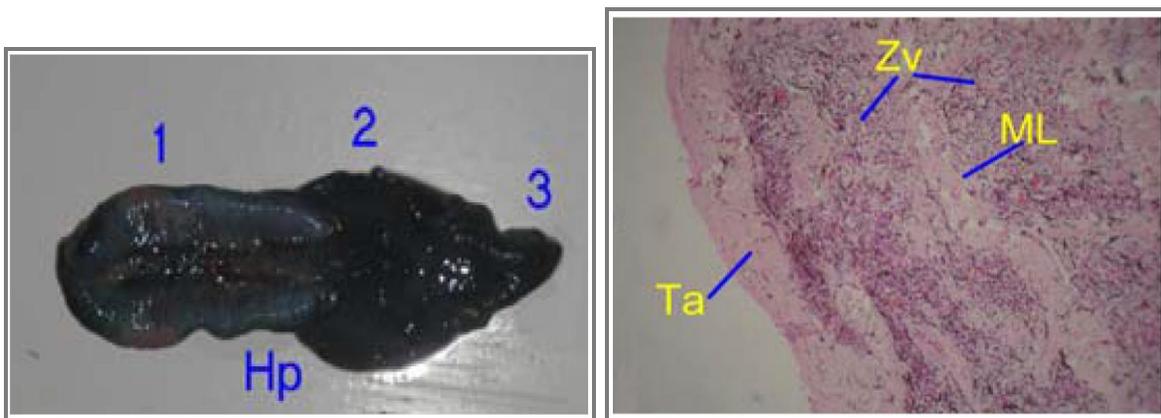


Figura 32. Hemipene: Porción anterior (1); Porción media (2); Porción posterior (3)

Figura 33. Corte histológico de hemipene 4X

Bolsas cloacales. Ubicadas lateralmente a la cloaca (Figura 34), en contacto con los músculos abdominales, caracterizados por ser dos sacos que se insertan en la cloaca.

Histología de bolsa cloacal. Las bursas cloacales (Figura 35) tiene un epitelio cilíndrico simple (EpT) sobre la lamina propia (Lp) y una túnica muscular de la mucosa (Ms M), en la que se encuentra una gran cantidad de tejido linfoide (AL), además se observa musculatura lisa (ML) y se recubre por una lámina serosa (S).

Cloaca. La cloaca se encuentra alojada sobre el pubis y dentro de la cintura pélvica, se prolonga dentro de la cola, se caracteriza por ser cilíndrica, y en su porción anterior aloja el urodeo proveniente de la vejiga urinaria, el coprodeo proveniente del intestino posterior, y las bolsas cloacales.

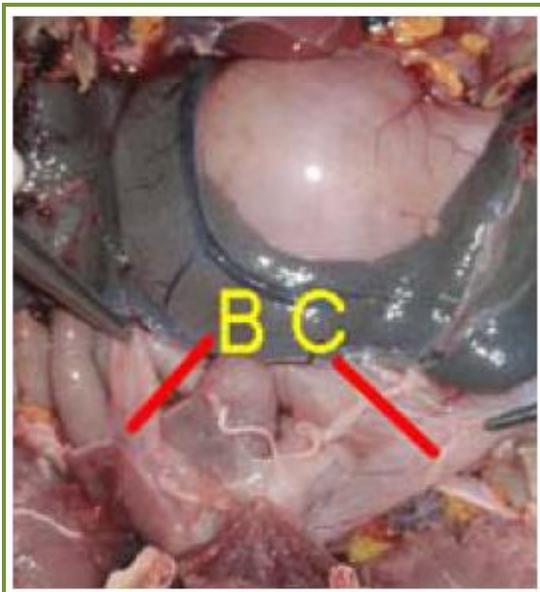


Figura 34. Bolsas cloacales

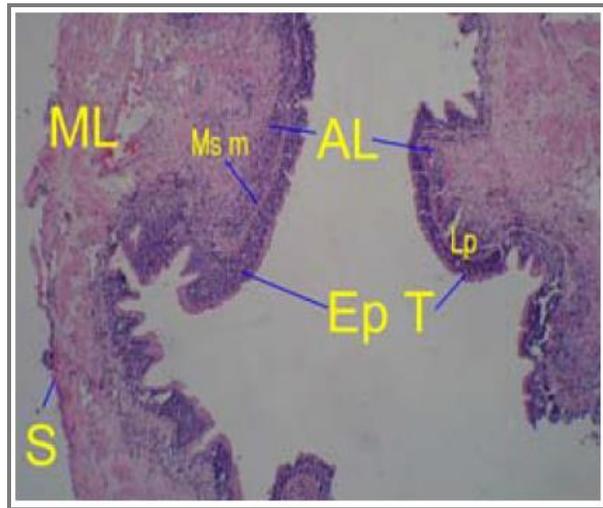


Figura 35. Corte histológico bolsa cloacal 4X

Histología de cloaca. La cloaca (Figura 36) posee una mucosa con epitelio cilíndrico pseudoestratificado (Ecp) con células caliciformes (Cc), y en las últimas porciones pasa a ser plano estratificado, la submucosa (Smc) contiene bastante tejido linfóide y adyacente a ésta se encuentra una gruesa capa muscular (Msc), por último se recubre por una túnica serosa externa.

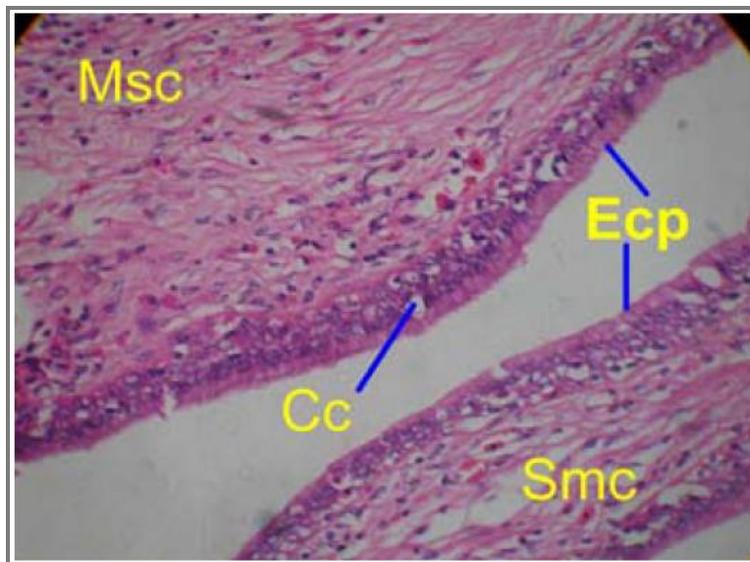


Figura 36. Corte histológico bolsa cloacal 4X

Tabla 5. Morfometría sistema urogenital

Órgano	Largo (cm)	Ancho (cm)	Peso (gr)
Riñón derecho	3,24 ± 0,68	1,97 ± 0,42	3,99 ± 2,44
Riñón izquierdo	3,24 ± 0,66	1,97 ± 0,48	3,87 ± 2,28
Uréter derecho	3,18 ± 0,87	0,27 ± 0,09	0,17 ± 0,05
Uréter izquierdo	3,26 ± 0,73	0,24 ± 0,08	0,21 ± 0,12
Vejiga urinaria	3,92 ± 0,75	5,06 ± 0,94	3,03 ± 1,75
Ovario derecho	11,95 ± 3,10	3,52 ± 1,68	39,07 ± 32,31
Ovario izquierdo	11,33 ± 3,61	4,38 ± 2,06	42,11 ± 41,50
Oviducto derecho	44,38 ± 13,19	1,42 ± 0,25	15,73 ± 8,99
Oviducto izquierdo	40,89 ± 11,33	1,28 ± 0,58	15,80 ± 9,52
Testículo derecho	2,02 ± 0,53	1,13 ± 0,36	1,29 ± 0,6
Testículo izquierdo	2,06 ± 0,48	1,26 ± 0,25	1,43 ± 0,54
Epidídimo derecho	4,90 ± 1,51	0,49 ± 0,12	0,25 ± 0,11
Epidídimo izquierdo	5,50 ± 1,73	0,48 ± 0,18	0,33 ± 0,18
Conducto deferente der.	2,36 ± 0,34	0,19 ± 0,05	0,10 ± 0,01
Conducto deferente izq.	2,35 ± 0,55	0,18 ± 0,05	0,09 ± 0,01
Hemipene	7,76 ± 0,42	2,15 ± 0,05	4,81 ± 0,99
Bolsa cloacal derecha	1,43 ± 0,41	5,32 ± 0,95	1,64 ± 1,27
Bolsa cloacal izquierda	1,36 ± 0,33	5,24 ± 1,2	1,37 ± 0,84
Cloaca	8,97 ± 2,08	1,65 ± 0,91	8,39 ± 6,63

Los riñones topográficamente se encontraron de acuerdo a lo reportado por Wyneken, (2001); Chacón (2001) y Faria (2003) en tortugas: marinas, tortuga terecay y morroco negro respectivamente. Los tejidos de las asas de Henle fueron similares a los observados por Faria, (2003) pero diferentes a lo reportado por Chacón, (2001) y Oros, (2004) lo que ratifica que los reptiles por ser amniotas tienen riñones de tipo metanéfrico (Kardong, 1996). En adición se encontró que el tamaño de los glomérulos es pequeño y se presentan en poca cantidad (Chacón, 2001) (Tablas 5 y 6).

Los uréteres por ser conductos presentaron un epitelio cubico simple similar a lo reportado por Chacón, (2001) y en discrepancia con Faria, (2003) que propone epitelio estratificado simple y para el presente estudio no se halló moco neutro debido a que no se utilizaron tinciones diferenciales.

En los ovarios se logró diferenciar las tecas y las células germinales (Chacón, 2001), a diferencia de lo reportado por Romero *et al.*, (1999) que caracterizan el estroma como septos formados por tejido conectivo, láminas elásticas y fibras

musculares. El oviducto se exhibió macroscópicamente con estriaciones, lo que no se había reportado en la literatura. A diferencia de Chacón, (2001) no se encontró un útero. Por último, no se encontraron glándulas de esperma en los machos.

Tabla 6. Relación porcentual alométrica sistema urogenital

Órgano	L/LRC (%)	L/Plastrón (%)	L/SMV (%)	AnO/An (%)	PO/Pan (%)
Riñón derecho	14,18 ± 1,57	15,61 ± 1,75	16,31 ± 1,84	11,65 ± 1,44	0,24 ± 0,06
Riñón izquierdo	14,36 ± 2,71	15,81 ± 3,09	16,53 ± 3,33	11,58 ± 1,29	0,23 ± 0,03
Uréter derecho	14,63 ± 5,61	16,20 ± 6,45	16,99 ± 6,91	1,59 ± 0,44	0,01 ± 0,01
Uréter izquierdo	14,79 ± 4,64	16,34 ± 5,26	17,14 ± 5,74	1,40 ± 0,39	0,01 ± 0,01
Vejiga urinaria	17,51 ± 3,71	19,28 ± 4,13	20,17 ± 4,49	30,26 ± 5,01	0,19 ± 0,04
Ovario derecho	45,01 ± 10,57	48,59 ± 11,56	50,25 ± 12,17	17,49 ± 7,87	1,47 ± 1,08
Ovario izquierdo	42,43 ± 11,7	45,77 ± 12,59	47,36 ± 13,29	21,89 ± 9,56	1,57 ± 1,42
Oviducto derecho	167,11 ± 46,48	180,14 ± 49,79	186,09 ± 51,54	7,13 ± 1,02	0,62 ± 0,23
Oviducto izquierdo	154,52 ± 43	166,52 ± 46,03	171,86 ± 46,92	6,47 ± 2,87	0,62 ± 0,33
Testículo derecho	10,62 ± 2,81	11,95 ± 3,25	12,61 ± 3,39	8,13 ± 2,82	0,15 ± 0,07
Testículo izquierdo	10,82 ± 2,76	12,71 ± 3,16	12,84 ± 3,27	9,02 ± 2,06	0,17 ± 0,07
Epidídimo derecho	25,56 ± 7,15	28,78 ± 8,33	30,36 ± 8,68	3,53 ± 0,95	0,03 ± 0,01
Epidídimo izquierdo	28,85 ± 9,06	32,49 ± 10,47	34,23 ± 10,77	3,51 ± 1,54	0,04 ± 0,02
Conducto defe. der.	12,33 ± 1,65	13,82 ± 1,64	14,61 ± 1,81	1,36 ± 0,35	0,01 ± 0,00
Conducto defe. izq.	12,26 ± 2,65	13,79 ± 3,2	14,54 ± 3,19	1,31 ± 0,41	0,01 ± 0,00
Hemipene	40,64 ± 2,01	45,63 ± 2,33	48,19 ± 2,5	15,37 ± 3,98	0,57 ± 0,13
Bolsa cloacal der.	6,21 ± 0,97	6,84 ± 1,06	7,14 ± 1,07	31,81 ± 4,94	0,09 ± 0,03
Bolsa cloacal izq.	5,95 ± 0,74	6,55 ± 0,83	6,84 ± 0,89	31,43 ± 8,28	0,08 ± 0,02
Cloaca	39,84 ± 9,34	43,88 ± 10,46	45,98 ± 11,60	9,19 ± 3,75	0,44 ± 0,18

L/LRC: Largo del órgano / Longitud Recta de Caparazón * 100; L/Plastrón: Largo órgano / Longitud de Plastrón; L/SMV: Largo órgano / Sutura Media Ventral; AnO/An: Ancho órgano /Ancho animal * 100; PO/Pan: Peso órgano / Peso animal * 100

En los testículos se encontró una túnica albugínea similar a la de serpientes (Al-Dokhi *et al.*, 2004), adicionalmente se hallaron las células de Sertoli (Gribbins *et al.*, 2005) al igual que las fases proliferativas descritas por éste, y que estas estructuras se encuentran acompañadas de las células de Leydig (Al-Dokhi *et al.*, 2004).

En el epidídimo se observó la llegada de la red de testis, y el seguimiento del conducto deferente con un epitelio cubico simple y cinco porciones del hemipene, que no han sido reportadas en otros estudios con tortugas (Oros, 2004), pero compartiendo los conceptos de este autor se encontró la ranura uretral llamada saco espermático. Por último, las bolsas cloacales, tienen un epitelio cilíndrico

simple que puede absorber agua la cual podría extraer el oxígeno disuelto para cubrir requerimientos de éste en condiciones de apnea.

CONCLUSIONES

Al describir las características de la anatomía e histología para los sistemas y órganos estudiados en tortuga sabanera *Podocnemis vogli* se puede concluir que los hallazgos son, en su mayoría, consecuentes con los resultados de estudios anteriores en reptiles y otros grupos de vertebrados. Sin embargo, fueron encontradas algunas particulares referentes a la forma, tamaño o presencia- ausencia de algunos órganos y accesorios.

Se hallaron modificaciones histológicas con relación a los reportes de la literatura para reptiles que marcan diferencias respecto a los epitelios y las tunicas estructurales del tubo digestivo, acercando al tipo de alimentación y el comportamiento del bolo alimenticio en este tracto. De igual manera sucede en el sistema urinario, ya que las modificaciones encontradas acercan a la forma de excreción metanefrica, con presencia de una vejiga urinaria, realizada por este tipo de animales.

A pesar de que los resultados obtenidos para las morfometrías de los órganos, podrían no ser estadísticamente representativos, por el tamaño de la muestra, debe resaltarse que proporcionan información valiosa referente al tamaño estándar de dichos órganos y por ende se convierten en una herramienta valiosa de diagnostico de anomalías morfológicas y fisiológicas presentadas en algún individuo de la especie.

RECOMENDACIONES

Se sugiere aplicar metodologías más completas de la ubicación de los órganos y sus morfologías *in situ*, por ejemplo, utilizando ayudas radiológicas o de ultrasonido, lo que demostrara la posición y forma de los órganos estando en animal vivo.

Respecto a las morfologías, se podrían aplicar pruebas de capacidad volumétrica de los órganos, diferenciación morfométrica entre las posiciones de estos y relacionarlos con las medidas externas de los animales, lo que trae inmerso la ampliación de la muestra.

En la toma de las muestras histológicas, tomar estructuras de mayor tamaño a 1 cm de lado debido a que por la consistencia de los tejidos se lesionan y hacen difícil la lectura de placas. Para la diferenciación y/o reconocimiento de la presencia de algunas estructuras es necesario el uso coloraciones diferenciales que permitan evaluar con exactitud la composición histológica de un órgano.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Al-Dokhi O. A., Al-Onazee Y. Z., Mubarak M. Light and Electron Microscopy of the Testicular Tissue of the Snake *Eryx jayakari* (Squamata, Reptilia) with a Reference to the Dividing Germ Cells. *Journal of Biological Sciences* 4 (3): 345-351. 2004.
2. Alibardi L., Thompson M. B. Scale morphogenesis and ultrastructure of dermis during embryonic development in the alligator (*Alligator mississippiensis*, Crocodylia, Reptilia). *Acta Zoologica (Stockholm)*, 81: 325-338. 2000.
3. Alibardi L. Immunocytochemistry and keratinization in the epidermis of crocodylians. *Zoological Studies*, 42 (2): 346-356. 2003.
4. Avendaño I. Aproximación al conocimiento sobre la reproducción de los quelonios. Universidad Nacional de Colombia. Voluntarios Urras. Boletín GEAS. 2002. Disponible En: www.portalveterinaria.com/section.php?op=viewartiele&artid=143#top
5. Banks W. *Histología Veterinaria Aplicada*, segunda edición. Editorial manual moderno. 1996.
6. Ceballos C. P. Tortugas (*Testudinata*) marinas y continentales de Colombia. *Biota Colombiana*. p 187-194. 2000.
7. Chacón E. Aproximación a la descripción macroscópica y microscópica de los sistemas digestivo y urogenital de la Terecay (*Podocnemis unifilis*). Tesis como trabajo de grado para optar al título de Médico Veterinario y Zootecnista. Universidad de los Llanos. Facultad de ciencias agropecuarias y recursos naturales. Escuela de medicina veterinaria y zootecnia. Villavicencio. 2001.
8. Claude J. A geometric morphometric assessment of the effects of environment and cladogenesis on the evolution of the turtle shell. *The linnean societiu of London, Biological Journal of the Linnean Society*, 79: 485-501. 2003.
9. Close B. Recomendaciones para la eutanasia de los animales de experimentación. University of Oxford. 1995

10. Crews D., Fleming A., Willingham E. Role of steroidogenic Factor 1 and aromatase in temperature-dependent sex determination in the red eared slider turtle. *Journal of Experimental Zoology*, 290: 597-606. 2001.
11. Datta P. M. The first Jurassic turtle from India. *Newsletter of the Paleontological Association. India*, 43 (1): 99-109. 2000.
12. Dierenfeld E. S. *Manual de nutrición y dietas para animales silvestres en cautiverio*. Wild Life Conservation Society. Bronx NY. 1996.
13. Faria N. T. *Topografía e morfología do sistema urinaria de jabuti "Geochelone carbonaria" (Spix, 1824)*. Tese (Doutorado). Universidad de Sao Paulo. 2003.
14. Fleming A., Wibbels T., Skipper, J. K. Developmental expression of steroidogenic Factor 1 in a turtle with temperature-dependent sex determination. *General and Comparative Endocrinology*, 116: 336-346. 1999.
15. Gribbins M. K, Happ C. S., Sever D. M. Ultrastructure of the reproductive system of the black swamp snake (*Seminatrix pygaea*). V. The temporal germ cell development strategy of the testis. *Acta Zoologica (Stockholm)* 86: 223-230. 2005.
16. Haaparanta A. E., Tellervo, V., Hoffman R., Holmes, J. Do macrophage centres in freshwater fishes reflect the differences in water quality?. *Aquatic Toxicology*, 34: 253-272. 1996.
17. Haugarvoll E., Bjerkas I. Poppe T. T., Koppang E. O. Morphological and ultrastructural study of vaccine-induced granuloma in atlantic salmon (*Salmo salar*). Abstracts of the XXVth congress of the European association of veterinary anatomists (EAVA). Oslo. p 17. 2004.
18. Herrel A. O'reilly J.C. Richmond, A. M. Evolution of bite performance in turtles. *J. Evol, Biol*. 15 Blackwell Science Ltd. 1083-1094. 2002.
19. Janeiro T. R. F. *Variaca~o anual do sistema reproductor de femeas de Bothrops jararacá (Serpentes, Viperidae)*. *Iheringia, Sér. Zool., Porto Alegre*, 94, (3): 325-328. 2004,
20. Kardong K. *Vertebrados, anatomía comparada. Función, evolución*. Mc Graw Hill – Interamericana. 1999.
21. Mader Dr. *Reptile and medicine surgery*. WB saunder company, Pennsylvania. 1996.
22. Martínez A S. *Manual clínico de reptiles*. Barcelona España. Grass iatros Ediciones. 1994.
23. Medem F. *Medidas para las tortugas y crocodilia*. *Revista caldasia*. Universidad Nacional de Colombia. 1975.
24. Moon P. F., Hernández S M. Reptiles: aquatic turtles (Chelonians). In: *Zoological restraint and anesthesia*, Hear d. (Ed) International Veterinary Infotmstion Service, Ithaca NY (www.ivis.org), B0118.0301. 2001.
25. Oros, J. *Anatomía e Histología de reptiles*. Universidad de las palmas de la Gran Canaria. 2004. Disponible En: <http://www5.ulpgc.es/servidores/reptilia/>
26. Pereira, J, G. Sousa K. R, Abreu-Silva A. L., Melo F. A. Costa, A. D. Histology of the spleen of the mucua~ *Kinosternon scorpioides (Chelonia: Kinosternidae)* *Acta Microscopica*, Volume 12, Supplement B. congress of the Brazilian Society for Microscopy and Microanalysis. 2003.

27. Pough H, F. Vertebrate Life. Fifth edition. Arizona State University West. New Jersey. p 342-367. 1999.
28. Ramírez J. Técnicas de recolección y control de calidad de huevos de tortugas y cocodrilos. Zoodivulgación, 1 (1): 32. 1999.
29. Rehorek S. J., Firth B. T., Hutchinson M. N. The structure of the nasal chemosensory system in squamate reptiles. The olfactory organ, with special reference to olfaction in geckos J. Biosci. Australia, 25: 173-179. 2000.
30. Rehorek S. J., Firth B. T., Hutchinson M. N. The structure of the nasal chemosensory system in squamate reptiles Lubricatory capacity of the vomeronasal organ. J. Biosci. Australia, 25 (2) 181-190. 2000.
31. Rieppel O. Turtles as diapsid reptiles. Zoologica Scripta, 29: 199-212. 2000.
32. Rodríguez R. F., Miglino M. A., Melo A. P. F. Vascularização arterial do trato gastrointestinal da *Trachemys scripta elegans*, Wied, 1838. Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science, 40: 63-68. 2003.
33. Romero G., Ramírez M. P., Calderón M. L. Estudio preliminar de la ultraestructura de la pared del ovario y de folículos previtelogénicos y vitelogénicos tempranos de Caimán *Crocodylus fuscus* (Reptilia, Crocodylidae). Rev. Acab. Colomb. Cienc., 23: 452-464. 1999
34. Rueda J. V., Rueda J. N. Las tortugas y crocodylia de Colombia: Manual para su identificación. Bogotá. Ed not Pub. 2003.
35. Sacristan A. Fisiología veterinaria. New York, United States of America. Editorial McGraw Hill. 1995.
36. Saito K., Shoti T., Uchida I., Ueda H. Structure of the olfactory and vomeronasal epithelia in loggehead turtle *Caretta caretta*. Department of biology. Hokkaido University. Fisheries Science, 66: 409-411. 2000.
37. Slack J. M. W. Developmental biology of the pancreas. Development, Great Britain. 121: 1569-1580. 1995.
38. Tedesco M., Fiorito L. E., Pereyra L. A. Estudio preliminar de la membrana timpánica en algunas especies de lagartos de la familia Teiidae (Reptilia, squamata). Universidad Nacional del Nordeste. Comunicaciones Científicas y Tecnológicas. Resumen: B-11. 2003.
39. Tedesco M. E., Hermida G. N., Fiorito L. E. Morfología pulmonar interna en tres especies de lagartos de la familia Teiidae (Reptilia-Squamata). Universidad Nacional del Nordeste. Comunicaciones Científicas y Tecnológicas. Resumen: B-034. 2004.
40. Valenzuela N., Adams D. C., Janzen F. J. Pattern does not equal process: Exactly when is sex environmentally determined?. The American Naturalist, 161 (4): 676-683. 2003.
41. Varela, N. Bases de nutrición en fauna silvestre fuente: boletín GEAS. Boletín del grupo de estudio de animales silvestres. Universidad Nacional de Colombia. 5 (1). 2003.
42. Vogelbein W. K., Fournie J. W., Overstreet R. M. Sequential development and morphology of experimentally induced hepatic melanomacrophage centre in *Rivulus marmoratus*, J. Fish boil., 31: 145-153. 1987.
43. Wyneken J. The anatomy of sea turtles. Southeast Fisheries Science Center. Miami. p 1-172. 2001.

Composición enzimática del veneno de la raya (*Potamotrygom schroederi*)

Enzymatic composition of stingray (*Potamotrygom schroederi*) venom

Rodríguez Ospina Nadia¹ y Ramírez Ávila Jaime²

¹MVZ. Universidad de los Llanos y

²Biol. Instituto Nacional de salud, Laboratorio de sueros

agroforesteria@unillanos.edu.co

Recibido 12 de Diciembre 2013, Aceptado 11 de Abril 2014

RESUMEN

Las rayas de agua dulce (familia *potamotrygonidae*), son peces que habitan los ríos de Colombia. Ningún estudio se ha realizado basado en la problemática de la accidentabilidad y el envenenamiento que ocasionan estos animales. Este trabajo pretende dar un aporte para el conocimiento de la composición enzimática del veneno de la raya *Potamotrygom schroederi*, proponiéndose la búsqueda de 6 enzimas: proteasas, 5'-nucleotidasa, fosfatasas ácida y alcalina, fosfolipasa A₂ y hialuronidasa. El veneno fue aislado de la raya *Potamotrygom schroederi*, obtenida del río Negro (Meta). Las rayas fueron capturadas y bajo manejo anestésico se retiró el arpón y posteriormente dejadas en libertad, los arpones se almacenaron en nitrógeno líquido y posteriormente fueron liofilizados, los cuales fueron raspados y su contenido pesado y homogenizado, luego se centrifugaron a 10.000 revoluciones por 10 minutos a 4°C, obteniéndose por lisis de las células, el veneno. Se trabajó como control positivo de los ensayos la hialuronidasa purificada, el veneno de *Bothrops asper* de la región de Armero, obtenido por ordeño de las serpientes mantenidas en cautiverio en el serpentario del Instituto Nacional de Salud. El control negativo para todos los ensayos fue un blanco. Las diferentes técnicas enzimáticas fueron estandarizadas y los resultados obtenidos determinan la presencia de 4 de las 6 enzimas propuestas inicialmente: proteasas, 5-Nucleotidasa, fosfatasa alcalina y hialuronidasa. Adicionalmente se realizó un perfil de accidentalidad en el Hospital Departamental de Villavicencio,

encontrándose 20 casos, con la presencia de síntomas tales como, necrosis tisular, edema y dolor, lo cual desencadenó en la amputación del miembro afectado. Los resultados obtenidos indican que las rayas son animales venenosos que influyen de manera directa en la salud humana, debido a que su veneno posee una mezcla enzimática que ocasiona disturbios graves en los diferentes sistemas, sin existir un tratamiento efectivo, razón por la cual deben ser considerados como un problema de salud pública, incorporándolos dentro del grupo de animales venenosos de Colombia.

Palabras clave: Raya, *Potamotrygon schroederi*, toxina.

ABSTRACT

The stingrays (family *potamotrygonidae*) are fish that inhabit the rivers of Colombia. No study has been conducted based on the problem of accidents and poisoning causing these animals. This work aims to contribute to the knowledge of the composition of the venom enzyme stripe *Potamotrygon schroederi*, proposing search 6 enzymes: protease, 5'-nucleotidase, acid and alkaline phosphatases, phospholipase A_2 and hyaluronidase. The venom was isolated stripe *Potamotrygon schroederi*, obtained from Negro river (Meta). The stripes were captured and under anesthetic management harpoon was removed and then left alone, the barbs were stored in liquid nitrogen and then were lyophilized, which were scraped and weighed and homogenized content, then centrifuged at 10,000 rpm for 10 minutes at 4°C, obtaining by lysis of the cells, the poison. It worked as a positive control for testing the purified hyaluronidase, *Bothrops asper* venom in the region of Armero, obtained by milking the snakes kept in captivity at the Serpentarium of the National Institute of Health. The negative control for all tests was a target. The different enzymatic techniques were standardized and results determine the presence of 4 of the 6 enzymes originally proposed: proteases, 5-nucleotidase, alkaline phosphatase and hyaluronidase. Additionally, a profile accident took place in the Departmental Hospital Villavicencio, finding 20 cases, with the presence of symptoms such as tissue necrosis, edema and pain,

triggering in amputation of the affected limb. The results indicate that the stripes are poisonous animals that have a direct bearing on human health, because their venom has an enzyme mixture that causes serious disturbances in various systems, with no effective treatment, why should be considered a public health problem by incorporating within the group of venomous animals of Colombia.

Keywords: Stingray, *Potamotrygom schroederi*, toxin.

INTRODUCCIÓN

Las rayas de agua dulce, género *Potamotrygom* se encuentran en la mayoría de los ríos de Colombia, describiéndose 6 especies: *P. magdalenae*, *P. yepezi*, *P. motoro*, *P. hystrix*, *P. schroederi* y *P. laticeps* (Petrovicky, 1990; Mojica, 1999). Las rayas en su cola poseen un mecanismo de defensa contra los predadores (el arpón), el cual contiene una cubierta tegumentaria (epidermis), que produce veneno, en el que se observa la presencia de enzimas como la 5'-Nucleotidasa y fosfodiesterasa en rayas de mar *Urobatís halleri* y *Dasyastis americana* (Meir y Acott Harrefeld, 1995). En Colombia no se ha realizado trabajos para la determinación de la presencia o ausencia de enzimas en el veneno de las rayas de agua dulce.

En Colombia no se ha realizado trabajos para la determinación de la presencia o ausencia de enzimas en el veneno de las rayas de agua dulce y se han registrado anualmente más de 2.000 casos de accidentes ocasionados por estos peces de agua dulce (Grenard, 1999). En otras zonas del mundo, como es el caso de la costa Norte Americana se han informado 750 picaduras por año, ocasionadas por rayas de mar, pastinacas (*Dayastis americana*) (The Merck, 1999).

La alta accidentalidad que estos animales ocasionan en Colombia anualmente y las sus consecuencias desagradables como: como: edema, necrosis, amputaciones y muerte, hace necesario conocer desde el punto de vista científico aspectos del envenenamiento, para no continuar con procedimientos poco ortodoxos, que desvirtúan el verdadero curso del accidente, por lo tanto es

importante realizar estudios que permitan conocer la composición enzimática de su veneno, con el fin de encontrar un antídoto adecuado para contrarrestar su efecto nocivo (Otero *et al.*, 2002).

Los venenos de animales, generalmente son mezclas biológicamente activas de polipéptidos y proteínas (Pineda y Rengifo, 2002), aminoácidos libres, ácidos orgánicos (especialmente citrato), azúcares (monosacáridos como la glucosa, galactosa y manosa), lípidos (ácidos grasos), nucleósidos, nucleótidos (adenosina, guanosina, inosina), aminas biogénicas (acetilcolina y otras colaminas), agua, detritos celulares, iones y bacterias (Meier y Stocker, 1995; Otero *et al.*, 2002), que provocan envenenamientos con sintomatología local como edema, flictenas, necrosis de tejido muscular y conectivo; y manifestaciones sistémicas que pueden generar nefrotoxicidad y generalmente involucran alteración de la hemostasia con pequeños sangrados o choque cardiovascular por hemorragia severa (Otero *et al.*, 2002; Santoro y Sanos, 2004).

METODOLOGÍA

El estudio se realizó en el Laboratorio de Sueros del Instituto Nacional de Salud, localizado en la ciudad de Bogotá. Se capturaron 20 ejemplares, los cuales fueron sometidos a restricción química, introduciendo al animal en una pileta con metasulfonato de tricaina a una dosis de 0.01% (ASU, 1999). Por medio de bisturí se extrajo el arpón, el cual fue almacenado para su conservación en nitrógeno líquido, con el fin de evitar la desnaturalización de los venenos, los peces vivos y recuperados del anestésico fueron devueltos al río.

Los arpones fueron raspados con bisturí para la obtención del veneno, el material colectado se sometió a liofilización, siendo suspendido en buffer fosfato 50 milimoles (mM), pH 7.0, con un contenido de cloruro de sodio 150 mM. Finalmente, se centrifugó a 10.000 revoluciones durante 10 minutos y el sobrenadante colectado se utilizó como fuente de enzimas para realizar los diferentes ensayos.

Determinación de proteasas. Se utiliza como sustrato caseína que al reaccionar con las proteasas, produce la liberación de aminoácidos (AA), estos AA no son precipitados por el ácido tricloroacético quedando en el sobrenadante, produciendo cambios de absorbancia que son leídos en espectrofotómetro a 280 nanómetros (nm). La caseína (0.5 ml al 2%) se hizo reaccionar con la muestra a analizar (0.5 ml), durante 15 minutos; la reacción se detuvo con ácido tricloroacético (1 ml al 10%), para precipitar las proteínas presentes en la reacción, se agitó y se dejó en reposo por 30 minutos, luego de los cuales se centrifugó dos ocasiones a 1.665 revoluciones durante 10 minutos y luego se extrajo el sobrenadante cada vez y se procedió a lectura, donde una unidad (U) de actividad de proteasas se define como la densidad óptica a 280 nm dividido en el tiempo de reacción (15 minutos) (Quevedo, 1999).

Determinación de hialuronidasa. El método utilizado para su determinación fue la turbidimetría, siendo esta la medida del grado de atenuación de un haz radiante que incide sobre partículas suspendidas en un medio, practicando la medición en el haz directamente transmitido. La determinación puede hacerse mediante un fotómetro normal de filtro fotoeléctrico o un espectrofotómetro con iluminación a la longitud de onda apropiada. El método fue estandarizado para el presente estudio en el laboratorio de sueros del Instituto Nacional de Salud (Quevedo, 1999), la metodología se basa en la formación de complejos relativamente insolubles, entre mucopolisacáridos ácidos aislados y bromuro de cetiltrimetilamonio, la cantidad de turbiedad que se desarrolla al adicionar el bromuro de cetiltrimetilamonio dentro de una solución de mucopolisacáridos ácidos es proporcional a la cantidad de mucopolisacáridos ácidos en el sistema.

Una alícuota de la enzima fue disuelta en 0.6 ml de buffer fosfato ácido cítrico al 0.1 M, pH 5.3, se incubó a 37°C durante 15 minutos con 200 microgramos (μg) de condroitin sulfato, disueltos en 0.4 ml de buffer fosfato ácido cítrico, al mismo tiempo, se preparó un tubo estándar con 200 μg de sustrato y un tubo blanco con solo el buffer, al final del periodo de incubación se adicionaron 2 ml de bromuro de cetiltrimetilamonio, la reacción se detuvo (llevando el pH a 12.5) produciendo la

turbiedad, luego se mezcló por inversión, y la densidad óptica fue determinada dentro de un tiempo de 10 minutos, contra el tubo blanco, tomando las lecturas en espectrofotómetro a 400 nm, la densidad óptica dada por el estándar, fue trazada contra la cantidad de mucopolisacáridos ácidos presentes en el tubo (200 µg), constituyendo una curva de calibración a la que se enviaron las densidades ópticas de los tubos que contenían la muestra. La unidad (U) de actividad de la enzima se expresa como la cantidad de enzima que produce un 50% de reducción de la turbiedad, dado por la cantidad inicial (200 µg) de sustrato.

Fosfatasa alcalina. La enzima es rutinariamente determinada con el uso de P-nitrofenilfosfatasa, como sustrato, para esto se mezcló 1.0 ml de la muestra con 1.0 ml de buffer glicina-NaOH al 0.1 M, pH 9.5, 1.2 ml de P-nitrofenilfosfatasa al 0.001 M, 0.3 ml de MgCl₂ 0.1 M, 0.1 ml de la muestra y 0.5 ml de agua deionizada, se incubó a 37°C por 15 minutos y se adicionó 3 ml de NaOH al 0.03 N, la absorbancia fue medida en espectrofotómetro a 400 nm, contra un blanco que contenía todos los reactivos excepto la muestra. Una unidad (U) de fosfatasa alcalina es definida como la cantidad de enzima que libera 1 micromol (µmole) de P-nitrofenol por minuto (Lee y Snake, 1979).

Fosfatasa ácida. Se mezclaron 0.5 ml de O-carboxifenilfosfatasa al 0.0036 M, con 2.0 ml de buffer acetato de sodio 0.15 M, pH de 5.0 y 0.5 ml de agua deionizada, luego se adicionaron 0.5 ml de la muestra, mezclando por inversión, se preparó un blanco con todos los reactivos excepto la muestra. Una unidad (U) de actividad de la fosfatasa ácida que es equivalente a 1 µmole del sustrato (O-carboxifenilfosfatasa), que es hidrolizada por minuto (Lee y Snake, 1979).

Determinación de fosfolipasa A₂ (PLA₂). Se disolvieron 0.68 gramos de agarosa A en 66.5 ml de buffer fosfato de sodio 50 mM, pH 7.5, esta mezcla se calentó en un baño de agua hasta su completa dilución, luego se fue enfrió a 52 grados para adicionar 1.2 ml de cloruro de sodio 10 mM, 16.5 ml de lecitina 3.5 mM y 1.02 ml de eritrocitos de cordero previamente lavados 4 veces con buffer de fosfato, usando centrifugación a 1000 revoluciones por 30 minutos, se sirvió esta solución

en una placa de vidrio a 52°C, se dejó en reposo durante 30 minutos y se realizaron pozos de 2.5 mm y se sembraron 10 microlitros de la muestra en cada uno, se llevó a incubar durante 20 horas a 37°C. La reacción de hemólisis puede detectarse por el efecto de aclaración de la suspensión, debido a la presencia de la fosfolipasa A₂, produciendo un halo hemolítico alrededor del pozo (Quevedo, 1999).

Determinación de 5'-nucleotidasa. 0.3 ml de 5-Adenosin Monofosfato al 0.01 M, se adicionaron a 0.1ml de MgCl₂ al 0.1 M, 0.5 ml de buffer de glicina-NaOH al 0.2 M, pH 8.5 y 0.2 ml de la muestra, la mezcla se incubó a 37°C por 15 minutos (Lee y Snake, 1979). La liberación del fosfato inorgánico es estimada por colorimetría que consiste en completar la muestra a un volumen de 100 ml, adicionando 0.05 ml (una gota) de indicador de fenoltaleína, 4 ml de molibdato de amonio y 0.5 ml de cloruro estañoso, se agitó y se leyó en espectrofotómetro a 690 nm (INS, 1991).

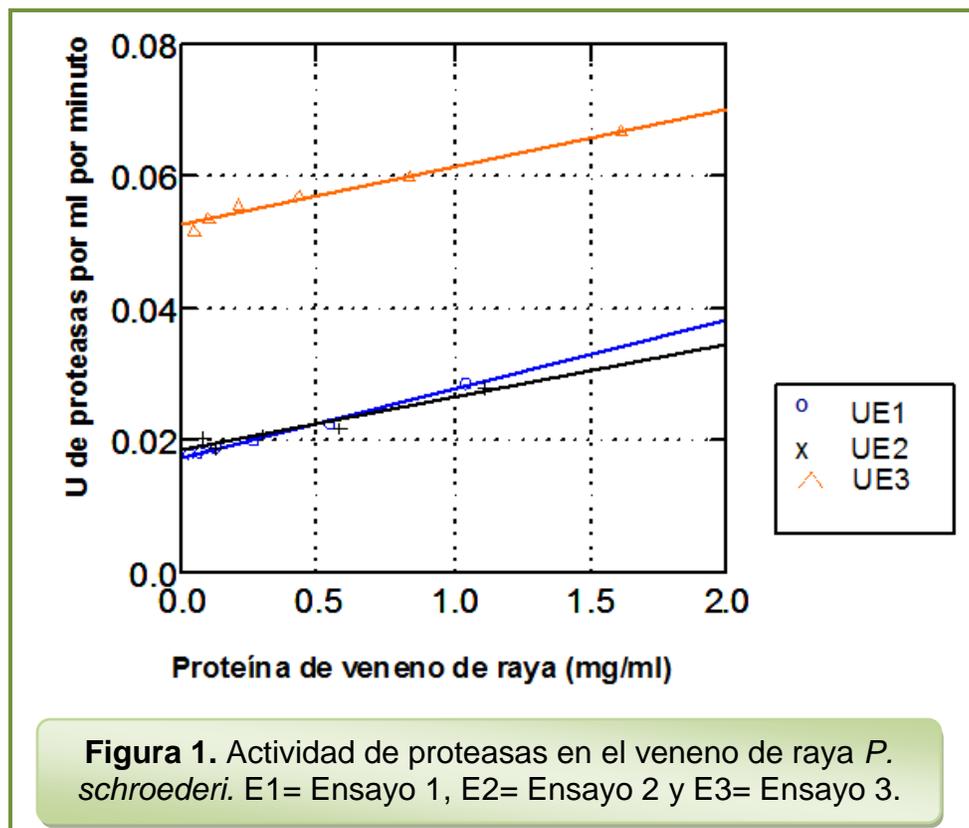
El perfil de accidentalidad con rayas consistió en una recopilación de datos obtenidos del registro de consulta de urgencias del Hospital Departamental de Villavicencio, correspondiente al año 2000. De las diferentes historias clínicas, se tomaron datos de síntomas presentados, frecuencia de casos por meses, miembros afectados, tratamientos instaurados en el centro hospitalario y técnicas inapropiadas aplicadas al momento del accidente.

RESULTADOS

Proteasas

La actividad de proteasas es medida utilizando como sustrato caseína, la cual reacciona con las proteasas, produciendo la liberación de aminoácidos que no son precipitados por el ácido tricloroacético, quedando en el sobrenadante y produciendo cambios de absorbancia que son leídos en espectrofotómetro a 280 nm, como control positivo al método se utilizó veneno de serpiente *B. asper* de la región de Armero, el cual permitió comprobar la eficiencia del método. La actividad

de proteasas en los tres ensayos (E1, E2 y E3) realizados para el veneno de raya (Figura 1), mostraron una regresión lineal con semejanza en las pendientes (promedio 0.065 unidades (U)/mg por minuto), con una medida de 0.01 U/mg por minuto y un intercepto de 0.0, para los 2 ensayos realizados con el veneno de *B. asper*. En los ensayos E1 y E2, las rectas se superponen teniendo un término independiente semejante (0.0181 U/mg por minuto), mientras que el E3 presenta un intercepto de 0.0518 U/mg por minuto.



Hialuronidasa

Para verificar la eficiencia del método usado, se trabajó como control positivo una hialuronidasa purificada (1 mg/ml), la cual presentó una actividad de 212.58 unidades de hialuronidasa (UH)/ml por minuto, mostrando que el método usado, sirve para la detección de esta enzima. No se utilizó el veneno de *B. asper*, como control positivo del método, debido a que no mostró resultados positivos a la actividad de la enzima hialuronidasa. Se realizaron varios ensayos de una misma

muestra de veneno de raya (*P. schroederi*), los cuales mostraron la presencia de la enzima hialuronidasa con una actividad de 0.178 UH/ml por minuto.

Fosfatasa ácida

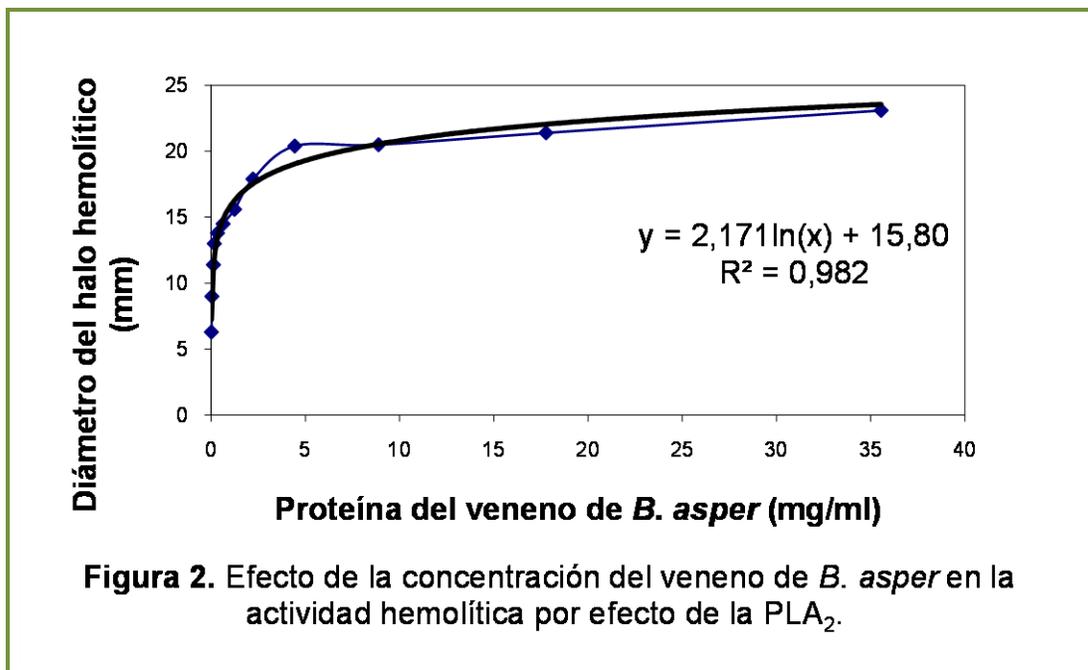
Se utilizó el veneno de serpientes de la especie *B. asper* como control positivo del método, dando una actividad de 156.28 unidades (U)/mg por minuto. Se trabajó con diferentes concentraciones de proteína del veneno de raya (*P. schroederi*), alcanzando una concentración de proteína de 32.82 mg/ml y no se encontró actividad de fosfatasa ácida.

Fosfatasa alcalina

Se utilizó como control positivo veneno de *Bothrops asper*, el cual mostró una actividad de 0.0028 U/mgx min y en el veneno de raya presentó para los ensayos realizados, una actividad de 0.519 U/mg por minuto, mostrando la presencia de fosfatasa alcalina en el veneno de raya *P. schroederi*.

Fosfolipasa A₂

Se utilizó como control positivo veneno de serpientes de *B. asper* (Figura 2), La mayor actividad (efecto dosis-respuesta) del veneno puede observarse en un rango de 6.3 a 13 mm, para los ensayos realizados. La técnica fue aplicada al veneno de raya (*P. schroederi*), hasta una concentración de proteína de 23.48 mg/ml, la cual no produjo halo hemolítico, no pudiendo demostrar la presencia de la enzima PLA₂ en este veneno. Sin embargo, se observó un halo no hemolítico, evidenciado por una zona roja de mayor intensidad alrededor del pozo; se tomó la medida de dicho halo en los diferentes ensayos encontrándose en un rango entre 4.7 a 5.1 mm, utilizando una concentración de proteína entre 8 a 23.48 mg/ml. También se realizaron ensayos para la detección de la PLA₂ directa, la cual no requiere la presencia de lecitina para ocasionar la lisis de las membranas del eritrocito, esto fue probado para el veneno de *P. schroederi* y *B. asper*, no mostrando resultados positivos para ninguno de los dos casos.



5'-nucleotidasa

La 5'-nucleotidasa es una enzima que se encuentra en todos los venenos de serpientes hasta ahora examinados, razón por la cual, se aplicó la técnica a diferentes venenos de serpientes de Colombia, mostrando actividad para todos los venenos examinados (Figura 3), y para el veneno de raya (*P. schroederi*), siendo esta última, cerca de tres veces más activa que los venenos de serpientes, en los ensayos realizados.

Perfil de accidentalidad por rayas en un año

Se presentan en promedio 20 accidentes en el año, con la distribución por meses (Figura 4), de los cuales presentados 17 fueron en adultos (85%) y 3 fueron a niños (15%), así mismo las lesiones en miembro inferior fueron mayores 18 casos (90%) y 2 (10%) en miembro superior. La casuística posiblemente se relaciona con la época del año, debido a que los meses de Enero, Febrero, Septiembre y Diciembre, fueron los en los que se presentaron mayor números de casos, asociando con los bajos niveles de agua en los ríos y a que las rayas son peces que se encuentran habitualmente en las orillas de los ríos, aunado a este hecho

los bañistas acceden a los ríos en verano, aumentando así la probabilidad de accidentes. Se observan los diferentes síntomas presentados en los 20 casos de accidentes por rayas en el Hospital Departamental de Villavicencio (Tabla 1).

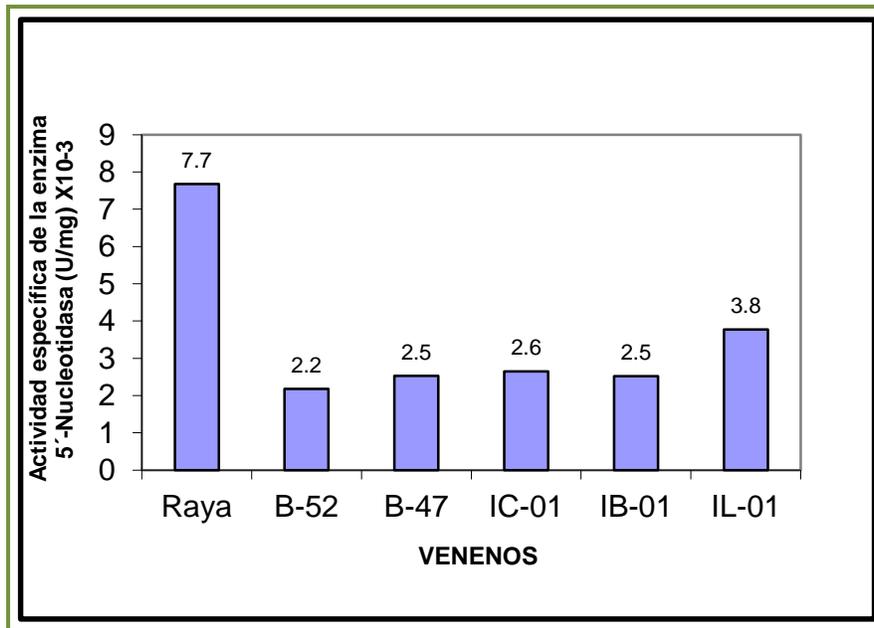


Figura 3. Actividad específica de la enzima 5'-nucleotidasa en los venenos de Raya (*P. schroederi*) *Bothrops asper*, Armero (B-52), *Bothrops asper*, Chiriguaná (B-47), pool de venenos del género (PVG) *Crotalos* de Colombia (IC-01), PVG *Bothrops* de Colombia (IB-01), PVG *Lachesis* de Colombia (IL-01).

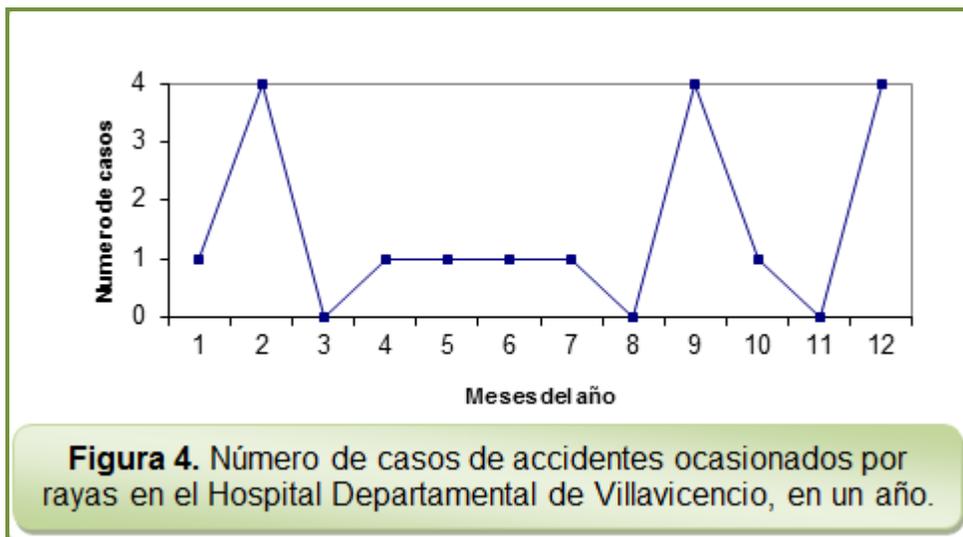


Figura 4. Número de casos de accidentes ocasionados por rayas en el Hospital Departamental de Villavicencio, en un año.

Tabla 1. Síntomas presentados en los accidentes con rayas, Hospital Departamental de Villavicencio, en un año.

Síntomas y consecuencias	Casos	% Incidencia
Dolor	20	100
Celulitis	2	10
Edema	8	40
Necrosis	4	20
Ulceras	1	5
Amputación o remoción parcial	4	20

Los tratamientos no médicos aplicados en el momento del accidente, fueron: plantas medicinales, hiel de lapa, orines, sal y cebolla con limón, en el sitio de la picadura, además consumo de alcohol por el paciente. Ninguna de las historias clínicas, evaluó parámetros hematológicos al momento de la lesión o posterior a ella. Los tratamientos instaurados en el centro hospitalario evidenciaron la carencia de aplicación de toxoide tetánico, el cual está indicado en cualquier tipo de accidente, además el uso de técnicas poco ortodoxas, como aplicación de sustancias inapropiadas, en un momento dado pueden agravar el cuadro clínico del paciente.

DISCUSIÓN

Para la realización de los ensayos se trabajaron 12 arpones de diferentes tamaños y diferentes concentraciones de proteína. Al realizar el análisis de los datos para correlacionar el contenido de proteína (mg/ml), con la longitud (cm), de los arpones se encontró que existe una relación lineal entre estos valores. De igual manera, se correlacionó la cantidad de raspado (mg) y el contenido de proteína (mg/ml), demostrando que existe una relación lineal entre la cantidad del raspado y la proteína. Los resultados demuestran que entre más largo sea un arpón, mayor contenido de proteína va a tener, observando una relación de 0.95 mg/ml de proteína por cada centímetro de arpón. De igual forma entre mayor cantidad de raspado se obtenga, mayor será el contenido de proteína, con una medida de 0.86 mg de proteína por 1 mg de raspado.

Las proteasas debido a su actividad proteolítica, causan el fenómeno de muerte celular conocido como necrosis. El veneno de *Bothrops asper* fue utilizado como control positivo, mostrando una actividad aproximadamente 6 veces mayor que el veneno de raya. Además, en el veneno de raya se observó un intercepto que varía de un arpón a otro, lo cual podría deberse a una diferencia entre arpones por la presencia de alguna sustancia no precipitable que presenta absorción en espectrofotómetro a 280 nm, como es el caso de aminoácidos, este efecto no se observó en el veneno de *B. asper*, para los ensayos realizados.

La hialuronidasa es una enzima que causa la hidrólisis del ácido hialurónico, el cual es el componente extracelular del tejido conectivo que controla el estado de hidratación y el tráfico de macromoléculas en la matriz tisular e interviene especialmente en la regeneración post inflamatoria, con actividad específica en la migración de los fibroblastos y la fibrogénesis (Habassedra, 2001). Los resultados obtenidos en el veneno de raya (*Potamotrygon schroederi*) mostraron la presencia de hialuronidasa, con una actividad de 0.178 unidades de hialuronidasa (UH)/mg por minuto.

Las fosfatasas pertenecen al grupo o de las fosfomonoesterasas, hidrolizan compuestos biológicamente importantes, relacionados con la producción de energía 8P-nitrofenolfosfato, el fenilfosfato, 2-AMP, 3-AMP, glucosa 1 y 6 fosfato y ácido glicerofosfórico (Tu, 1977). Este desbalance entre el consumo y la reposición de energía ocasiona edema e isquemia tisular, con eventual necrosis. De igual forma, a nivel sistémico los productos de la hidrólisis del ATP y AMP, son componentes tóxicos que causan disminución de la presión sanguínea. La fosfatasa ácida en el veneno de *B. asper* utilizado como control positivo, mostró la eficiencia del método, sin embargo, el veneno de raya no mostró presencia de esta enzima hasta una concentración de proteína de 32.82 mg/ml. La fosfatasa alcalina en el veneno de raya (*P. schroederi*) mostró una actividad de 0.519 U/mg por minuto, es decir una actividad 185 veces superior en comparación con el veneno de *B. asper* (0.0028 U/mg por minuto), en los ensayos realizados.

La enzima fosfolipasa A₂ pertenece a una familia de proteínas relacionadas antigénicamente y con estructuras químicas semejantes y agrupadas por la producción de hemólisis. Algunas PLA₂ aisladas del veneno de serpientes e inyectadas en tejido muscular de mamíferos, conducen a una serie de drásticos eventos degenerativos que probablemente se inicien en la membrana plasmática y culminan con necrosis selectiva de músculo esquelético. Se supone que el efecto miotóxico es provocado por interacción electrostática con la membrana y posterior penetración de la bicapa (Gutiérrez y Lomonte, 1995), y los efectos causados por PLA₂ inducen a desestabilización de la membrana, con pérdida selectiva de la permeabilidad del ion Ca⁺⁺, mediador importante en el proceso de necrosis muscular. Sin embargo, la PLA₂ induce otras alteraciones patológicas importantes, tales como: neurotoxicidad, acción cardiotoxica, hemólisis, efecto anticoagulante y actividad inductora de edema. En el grupo control el veneno de *Bothrops asper*, mostró resultados positivos, mientras que en el de la raya (*P. schroederi*), no existió la formación de halo hemolítico por acción directa o indirecta de la PLA₂. Sin embargo, con veneno de *P. schroederi* en la prueba de hemólisis indirecta, se formo un halo de coloración intensa alrededor del pozo, pero sin evidencia de hemólisis, lo que sugiere que el cambio en la coloración puede deberse a un efecto sobre la membrana del eritrocito, que no puede ser atribuido a la fosfolipasa A₂.

La 5'-Nucleotidasa es una enzima que causa la hidrólisis específica de los monoesteres fosfatos con las uniones en la posición 5 del DNA y el RNA y también hidroliza dos o tres fosfatos de adenosina, guanosina, entre otros. Los venenos de algunas serpientes de Colombia fueron analizados junto con el veneno de raya, encontrando que el veneno de raya (*P. schroederi*), era aproximadamente tres veces (7.7×10^{-3}) más activo que los venenos de serpientes.

Modelo fisiopatológico del veneno de raya (*Potamotrygon schroederi*)

Debido a la carencia de trabajos conducentes a la determinación de la composición enzimática del veneno de la raya de agua dulce y a la subestimación de los accidentes presentados se buscó dar un modelo explicativo de la fisiopatología del veneno de la raya *P. schroederi*, basado en la acción individual de las enzimas sobre componentes del organismo vivo.

Entre los síntomas presentes en accidentes con rayas, esta la necrosis tisular, y edema celular (Meier y Acoot, 1995; The Merck, 1999), lo cual se confirmó con un perfil de accidentalidad, realizado en el Hospital Departamental de Villavicencio, en donde 4 de 20 casos (20%), presentaron necrosis tisular y 8 de los 20 casos (40%) edema. Esta sintomatología presentada probablemente podría explicarse de acuerdo con los resultados encontrados en este estudio, a la acción combinada de las enzimas: hialuronidasa, proteasas, fosfatasa alcalina y 5'-nucleotidasa, descartando que algunos síntomas sean ocasionados por la presencia de fosfolipasa A₂ y la fosfatasa ácida.

La formación de necrosis tisular puede ser explicada como el desencadenamiento de una cascada de fenómenos que probablemente inician con la acción de la hialuronidasa, causando destrucción del ácido hialurónico, provocando una pérdida de agua y permitiendo la difusión de enzimas tóxicas dentro de las víctimas como: fosfatasa alcalina, 5'-Nucleotidasa y proteasas, siendo estas últimas responsables de causar la hidrólisis de proteínas de los tejidos, produciendo la muerte celular.

La destrucción de los tejidos podría continuar probablemente con la acción de la fosfatasa alcalina y 5'-nucleotidasa, que actúan produciendo la hidrólisis de los ésteres fosfatos, de nucleótidos y nucleosidos. La hidrólisis del ATP y el aumento del AMP, agotamiento de las reservas energéticas, ocasionando un desbalance entre la reposición y el consumo de ATP, lo cual se encuentra asociado a la disminución del flujo tisular de electrones mitocondriales, con la consecuente disminución de la presión de oxígeno tisular, debido a esto se produce isquemia y

acumulación de radicales que causan daño celular y degradación de los ácidos nucleicos. Al mismo tiempo se disminuye el pH por acumulación de ácido láctico y fosfatos inorgánicos (producto de la hidrólisis de esteres fosfatos), produciendo lesión en las membranas lisosomales, permitiendo la salida de enzimas al citosol, las cuales producen la autodigestión y muerte celular (necrosis).

La producción de edema posiblemente se produce por la falla de la bomba de sodio (de alto consumo energético), el sodio empieza a entrar a la célula y consigo el agua, dilatando el retículo endoplasmático, mitocondrias y aparato de Golgi. (Raffan y Kling, 2001). De esta manera, se puede aproximar la acción de las enzimas encontradas en el organismo vivo (proteasas, hialuronidasa, fosfatasa alcalina y 5'-nucleotidasa), las cuales pueden en un momento dado estar asociadas con el daño sobre los tejidos, ocasionando una isquemia tisular, edema y eventual necrosis. Una vez instaurado el efecto de necrosis sobre los tejidos, la resolución del daño y el cierre del trauma mecánico, se ve afectado por la destrucción del ácido hialurónico, a causa de la hialuronidasa, lo cual impide la cicatrización. A nivel sistémico los productos de la hidrólisis de ATP y AMP, por la 5'-nucleotidasa y fosfatasa alcalina, son componentes tóxicos que causan disminución de la presión sanguínea (Bücherl y Buckley, 1968). El veneno de raya es considerado como cardiotóxico (raya *Urolophus halleri*), esto se podría explicar por la presencia de la 5'-nucleotidasa, y por la acción de la fosfatasa alcalina en el veneno de raya (*P. schroederi*). La acción de la 5'-nucleotidasa en el organismo vivo, bajo condiciones de isquemia de las células que han perdido la capacidad de la síntesis de ATP, llegando a producir solo AMP, y adenosina, que es una sustancia poderosamente vasodilatadora, la cual disminuye la perfusión coronaria e incrementa el desbalance entre la oferta y demanda de oxígeno (Castro, 2001).

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos demuestran claramente la importancia de la accidentalidad ocasionada por las rayas de agua dulce, debido a que su veneno posee una mezcla enzimática de proteasas, fosfatasa alcalina, hialuronidasa y 5'-

nucleotidasa, que fisiopatológicamente podrían causar en el individuo alteraciones locales y sistémicas, lo cual hace necesario definir diferentes grados de envenenamiento y crear políticas de tratamientos en los diferentes hospitales, dejando de lado la creencia de que las rayas no son peces venenosos, ya que esta consideración lleva a las personas a subestimar la importancia del accidente, generando complicaciones mayores de los mismos.

RECOMENDACIONES

Realizar estudios que permitan obtener los orígenes e inserciones de los diferentes músculos que conforma la cola, con el fin de ver en mayor detalle su función. Establecer la relación que existe entre el tamaño del animal y el tamaño del arpón. Realizar trabajos más profundos (inmunohistoquímica o hibridación *in situ*), de las células serosas, con el fin de confirmar que realmente son las productoras de veneno.

En ninguno de los casos presentados en el Hospital Departamental de Villavicencio, se evaluaron parámetros hematológicos, lo cuales deben ser evaluados en cualquier caso de envenenamiento por rayas para determinar la influencia del veneno a nivel sistémico.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Arizona State University (ASU). Standard Operating Procedures for Fishes. 1999. Recuperado 10 de Junio de 2010. Disponible En: http://researchnet.asu.edu/animal_care/animal_information/fish_info.html
2. Auerbach S., P. Marine envenomations. New Eng. J. of medicine., 325: 486-493, 1991.
3. Bücherl W., Buckley E. E. Venomous animals and their venoms: Venomous vertebrates. London: Academic press, 1: 167-216. 1968.
4. Cala P. Nuevos registros de peces para la Orinoquia colombiana. Unellez de Ciencia y Tecnología, 4: 89-112, 1986.
5. Castro A. R. Fisiología de la circulación coronaria. 2001. Recuperado 10 de Diciembre de 2010. Disponible En: www.infomedonline.com.ve/cardiopatia/fisiol.htm
6. Collective Review. Stingray injuries. 1999 Recuperado 5 de Febrero de 2010. Disponible En: www.wadingboot.com/collective_review.htm
7. Dahl, G. Los peces del norte de Colombia. Bogotá: INDERENA, 25-38. 1971.

8. Grenard S. Stingray injures envenomation, and medical magnament. Recuperado 20 de Junio de 2009. Disponible En: www.private.add.com.e/potamotrygom/fremdes/stingray%article.html
9. Gutiérrez J. M., Lomonte B. Phospholipase A2 Myotoxins from Bothrops snake venoms. *Toxicon*. 33 (11): 1405-1424. 1995.
10. Habasseda X. Ácido hialurónico. 2001. En: Drugs of today. Recuperado 10 de Diciembre de 2010. Disponible En: www.sdpt.net/Farmacologia/acido%20hialuronico.pdf
11. Instituto Nacional de Salud Colombia (INS). Análisis de agua para el consumo humano. Subdirección de epidemiología y laboratorio nacional de referencia. Laboratorio red salud ambiental. Santafé de Bogotá: Ministerio de Salud, 1991.
12. Lee, Y. Snake venoms: Hadbook of experimental pharmacology. Board, Springer-Verlag. Berlin Heidelberg. New York, 52: 93-100, 1979.
13. Meier J., Acott C. Clinical toxicology of venemous stingray injures. En: White J. and Meier J. Clinical toxicological of animal venoms and poison. London: CRC press, p 135-140, 1995.
14. Mojica C, J. Lista preliminar de las especies de peces dulceacuícolas de Colombia. *Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales*, 23: 547-566, 1999.
15. Otero, R., Gutiérrez, J., Mesa, M.B., Duque, E., Rodríguez, O., Aranga, J.L., Gómez, F., Toro, A., Cano, F., Rodríguez, L.M., Caro, E., Martínez, J., Cornejo, W., Gómez, L.M., Uribe, F.L., Cárdenas, S., Nuñez, V., Diaz, A., Complications of Bothrops, 66 Porthidium, and Bothriechis snakebites in Colombia. A clinical and epidemiological study of 39 cases attended in a university hospital. *Toxicon* 40: 1107-1114. 2002.
16. Petrovicky I. La gran enciclopedia de los peces de acuario. Susaeta. Madrid, p 32-33, 1990.
17. Pineda D., Rengifo J.M. Accidentes por animales venenosos. Santafé de Bogotá, Instituto Nacional de Salud, p 31-63, 2002.
18. Quevedo H., B. Purificación y determinación de algunas características de la enzima fosfolipasa en el veneno de Bothrops atrox (taya X), proveniente de Chiriguaná, Cesar, 139 p. Santafé de Bogotá, 1999. Trabajo de grado (químico). Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ingeniería. Departamento de Ingeniería.
19. Raffan S. F., Kling G. J. Síndrome de reperusión. 2001 Recuperado 8 de Noviembre de 2010. Disponible En: www.scare.org.co/publicaciones/recursos/RCA.../síndrome%20de20reperfusion.html
20. Santoro M.L., Sano-Martins I.S. Platelet dysfunction during Bothrops jararaca snake envenomation in rabbits. *Journal of Thrombosis and Haemostasis* 92: 369-83, 2004.
21. Tu T. A. Venoms: Chemistry and molecular biology. New york: A wiley interscience publication, p 23-63. 1977.
22. The Merck. Venomous bites and Stings. Manual. Home edition. Sec. 24, Ch. 287. Recuperado 5 de diciembre de 1999. Disponible En: www.merck.com/pubs/mmanual_home/sec24/287.htm

Influencia del virus de la tristeza de los cítricos (CTV) en copas de lima Tahití (*Citrus latifolia* Tanaka), injertadas sobre patrón de mandarina cleopatra (*Citrus reshni* Horth. Ex Tan)

Influence of virus citrus tristeza (CTV) of Tahití lime (*Citrus latifolia* Tanaka), grafted on rootstocks of cleopatra mandarin (*Citrus reshni* Horth. Ex Tan)

Hernández Parrado Francy¹; Quiroga Cardona Julio¹,
Silva María del Rosario² y Orduz Javier Orlando³

¹Ing Agrónomo. Unillanos, ²Biologa MSc Docente Unillanos y

³Ing. Agrónomo MSc PhD Docente Unillanos

jorduz@corpoica.org.co

Recibido 18 de Noviembre 2013, Aceptado 11 de Abril 2014

RESUMEN

El cultivo de limón Tahití (*Citrus latifolia* T), es uno de los renglones económicos que contribuye a las exportaciones en Colombia, sin embargo, su producción se ve afectada por diferentes factores que causan pérdidas, entre los cuales el más limitante es el “virus de la tristeza” de los cítricos (CTV), afectando su productividad. La presente investigación se encaminó a realizar un análisis de la enfermedad en condiciones ecológicas de los Llanos Orientales de Colombia, donde este virus ha ocasionado reducción de la producción en un 90%, después del noveno año de haber sido establecido como cultivo y al sexto año después de haber entrado en la fase productiva. Los datos fueron obtenidos del Centro de Investigación CORPOICA, La Libertad, de un cultivo comercial de lima Tahití, sembrado en el año de 1997 y sobre patrón Cleopatra. Se analizó información recolectada en el año 2003 por investigadores del centro y se comparó con la información obtenida a la fecha del presente trabajo, se evaluaron datos como incidencia y severidad del CTV sobre el cultivo, y la influencia de estos factores en la producción a través del tiempo, además, la sintomatología presente en distintas partes de la planta. Los resultados de las observaciones y evaluaciones del cultivo de lima Tahití establecido en CORPOICA *La Libertad* en el año de 1997 fue

afectado durante once años por el CTV, presentándose una incidencia en aumento gradual hasta llegar al 100%, los 490 árboles/ha establecidos, todos están con el CTV. Es importante indicar que desde el noveno año el cultivo presenta una disminución notable de su fruto en el tamaño y calidad y por tanto de su productividad por causa de esta enfermedad.

Palabras clave: Cítricos, frutas, producción.

ABSTRACT

The Tahiti lime (*Citrus latifolia* T) cultivation, is one of the economic lines contributing to exports in Colombia, however, production is affected by various factors that cause losses, among which the most limiting is the "virus citrus sadness" (CTV), affecting their productivity. This research was directed to conduct an analysis of the disease in ecological conditions of the Eastern Plains of Colombia, where the virus has reduced production n 90%, after the ninth year after being established as a crop and sixth year after having entered the production phase. Data were obtained CORPOICA Research Center, La Libertad, a cash crop of Tahiti lime, planted in the year 1997 and Cleopatra pattern. Information collected in 2003 by researchers at the center and compared with the information obtained to the date of this work was analyzed, data as incidence and severity of CTV on the crop, and the influence of these factors on production were evaluated through time, moreover, the symptoms present in different parts of the plant. The results of the observations and assessments culture Tahiti lime established CORPOICA La Libertad in the year 1997 was affected for eleven years by the CTV, presenting an incidence gradually increased up to 100%, 490 trees/ha established, all are with CTV. Importantly, since the ninth year the crop has a notable reduction in fruit size and quality and therefore their productivity because of this disease.

Keywords: Citrus, fruit, production.

INTRODUCCIÓN

El virus de la tristeza (CTV) que afecta a los cítricos, produce una de las enfermedades más importante de nivel mundial, debido a que en los últimos 20 años ha causado la muerte a más de 100 millones de árboles en América del Sur, California, Florida (EE.UU.), Israel y España. Este virus se transmite principalmente por el áfido *Toxoptera citricida* y por material vegetativo infectado (injertos). Este áfido ha sido recientemente detectado en el sureste México, donde la mayoría de las plantas comerciales (más del 90%) están injertadas sobre naranjo agrio que es susceptible a esta enfermedad (Agrios, 2005), por lo que se podría ocasionar una epidemia. Aunque se ha comprobado que esta enfermedad empezó a manifestarse en forma epidémica en distintos países a partir de 1930, siendo una de las más destructivas e importantes desde el punto de vista económico (Cambra y Moreno, 2000).

La caracterización molecular, la cual incluye la secuenciación completa del genoma del CTV, ha abierto la puerta para hacer diversos estudios encaminados a contrarrestar (disminuir) los daños causados por este complejo viral, logrando amplificar la secuencia del gen de la cápside, también se han encontrado enzimas de restricción que permitan diferenciar variedades de cítricos susceptibles y resistentes a esta enfermedad, aunque se requiere más investigaciones para erradicar su incidencia (Mendoza *et al.*, 2003; Rodríguez, 2005).

El cultivo de cítricos como cualquier actividad agrícola, requiere una planeación, conocer los gastos en que incurrirán y las utilidades que se generarán, para que de esta manera el agricultor pueda tomar las decisiones más adecuadas de acuerdo a la relación de costos, ingresos y utilidades. La enfermedad producida por el CTV, prácticamente aparece en todas las áreas del mundo donde se cultivan cítricos afectando principalmente al naranjo, toronjo y lima (Agrios, 2005). El CTV se trasmite de árboles enfermos a los sanos por injertos y por algunas especies de áfidos o pulgones (Cambra y Moreno *et al.*, 1990).

METODOLOGÍA

El análisis se realizó con datos obtenidos del Cultivo de lima Tahití (*Citrus latifolia* Tanaka) injertadas sobre patrón de mandarina Cleopatra (*Citrus reshni* Horth. Ex Tan), se sembraron 490 plantas, en tres bolillo a una distancia de 4.85 metros en el año de 1997 y afectado por el virus del CTV, en el Centro de Investigación Agropecuaria (CORPOICA), La Libertad, en Villavicencio (Meta), ubicado a latitud 04°03' longitud, 73°29' oeste y con una precipitación promedio de 2458 mm año, distribuida entre los meses de Abril a Diciembre, temperatura promedio de 25.5 °C, y la humedad relativa del 80%, 1478 horas sol/año, ETP 1106.5 mm/año; el tipo de suelo del área de estudio se clasifica como Typic Haplustox, de textura franco-arcillosa, estos suelos se conocen como clase IV en la clasificación regional y son los recomendados para el cultivo de cítricos en la región (Orduz , 2003).

Se cuantificaron la totalidad de las plantas, sanas y enfermas, para establecer la incidencia del CTV mediante la fórmula:

$$I = \frac{\text{Número de plantas enfermas}}{\text{Número de plantas sanas más enfermas}} \times 100$$

Número de plantas sanas más enfermas

Para determinar la severidad de esta enfermedad (**S**), se estableció una escala de evaluación en porcentaje, y mediante la siguiente formula se logró de manera cuantitativa conocer el grado de afección de las plantas en el cultivo.

$$S = \frac{\sum \text{Número de la escala}}{\text{Número total de árboles}} \times \text{Número de árboles evaluados} \times 100$$

Número total de árboles

Con esta fórmula se hizo la descripción de los síntomas que se observaron a nivel de hojas, tallos, ramas y frutos en el tercio medio y superior de la planta, se tomaron tres ramas en posición opuesta, además se realizaron cortes longitudinales y transversales de los tallos y ramas donde se describió la sintomatología interna presente en los tejidos de lima Tahití afectado por CTV.

Para establecer el grado de severidad de esta enfermedad, que se estima con el rango *Stem pitting*, para tal efecto se observó la sintomatología como tallos con picaduras, lo mismo el fruto, con cerdas de madera y picaduras, madera porosa, acanaladuras, necrosis, coloraciones anormales en hojas y otras partes de la planta; con esta información se hicieron evaluaciones sobre una escala, la cual varió desde muy leve (0%) a grave (100%) (Ndongo *et al.*, 2007).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Con las observaciones realizadas para identificar el estado sanitario actual del cultivo, se conoció que la población total de árboles de lima Tahití (*Citrus latifolia*. Tanaka) se encontraban afectadas por el CTV en diferentes grados de afección y se comparo con datos obtenidos en el año de 2003 (Tabla 1).

Tabla 1. Incidencia en el cultivo

Variable	Año 2003	Año 2008
Número total de plantas	490	490
Número de plantas afectadas por CTV	82	490
Número de plantas sanas	409	0
Incidencia (%)	16.5	100

El índice de incidencia del lote comercial de lima Tahití del Centro de Investigación Corpoica, La Libertad en la actualidad, es del 100%, es decir, que la totalidad de los árboles se encuentran afectados por el CTV en mayor o menor grado en la evaluación realizada en el 2008, no obstante, se observa como esta cifra se incremento significativamente respecto al dato obtenido para el año 2003, en el cual solo el 16% de plantas estaban afectadas visiblemente por CTV. El incremento del índice de incidencia en la plantación se ha expresado a través del tiempo debido a la influencia del virus sobre las plantas desde el año de 1997, momento en el que fue establecido el cultivo.

Severidad. Para determinar la severidad del CTV sobre el cultivo se efectuó la observación general e individual de cada uno de los árboles, cuantitativamente se le asignó un valor de 0 a 100 y tomando como referencia la escala propuesta por

Ndongo *et al.*, 2007, la cual se ajusto a las necesidades del presente trabajo (Tabla 2).

Tabla 2. Severidad de la enfermedad CTV del cultivo lima Tahití

VALOR 0 - 100	DESCRIPCIÓN
0	Sin sintomatología visible.
25	Sintomatología no tan visible, hojas verdes, presencia de <i>stem pitting</i> no tan evidente, leve disminución en la producción y frutos de tamaño normal.
50	Las plantas permanecen con un 50% de hojas, se observa la presencia de <i>stem pitting</i> en tronco y ramas, parte del árbol se encuentra muerto, disminución notable en la producción, las hojas empiezan a mostrar síntomas correspondientes a halos amarillos en el haz y en el envés, frutos de tamaño mediano y de color verde pálido.
75	Cerca de las $\frac{3}{4}$ partes del área foliar destruida. Solamente unas pocas hojas permanecen, frutos pequeños color verde pálido o amarillo, presencia severa de <i>stem pitting</i> , ramas secas, producción mínima casi nula.
100	Todas las hojas, los tallos y ramas muertos. Presencia o no del patrón en el sitio.

Se consideró la escala de valoración y método utilizado por Ndongo *et al.*, 2007, en la cual se tiene en cuenta el volumen de copa, la densidad de hojas, y su coloración, que al cotejarlo con el estado actual de los árboles de lima Tahití se observa que en el cultivo, que presentó una incidencia del 100%, hay presencia de plantas con los diferentes grados de severidad propuestos para CTV. Cuantitativamente se aplicaron las observaciones realizadas a la fórmula establecida para severidad y se obtuvieron los siguientes resultados, los cuales se compararon con la evaluación fitosanitaria realizada al cultivo en el año de 2003.

En términos generales se puede decir que el virus del CTV, para el año 2003, se encontraba afectando el 29.4% del tejido de las plantas en el lote, cifra que aumentó en la evaluación realizada en el 2008 a un 80.3%. Basándose en las escalas anteriormente descritas, se puede decir que para el año 2003, el cultivo presentaba una sintomatología no tan visible, hojas verdes, presencia de *stem pitting* no tan evidente, leve disminución en la producción y frutos de tamaño normal, según Ndongo *et al.*, 2007, la plantación mostraba un dosel poco

destruido, voluminoso, y con hojas de color verde intenso, lo que ubica la plantación en el nivel 3 de dicha valoración (Figura 1).

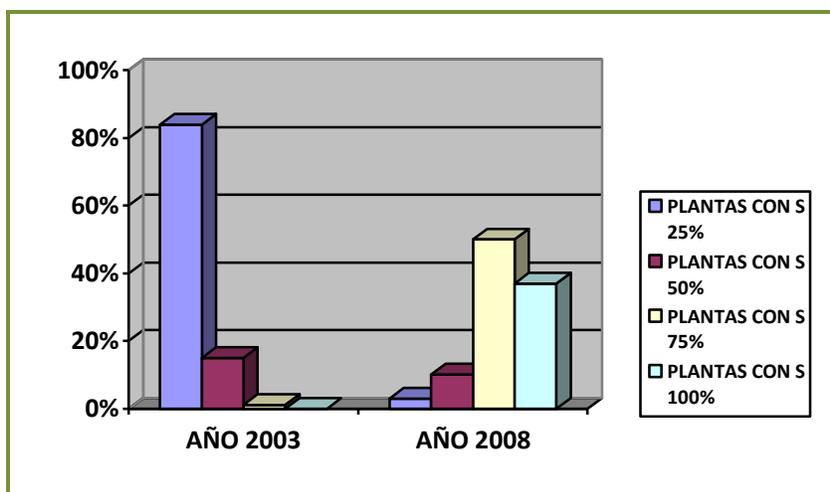


Figura 1. Índice de severidad del CTV sobre lima Tahití (*Citrus latifolia* T). Evaluaciones 2003 y 2008

La misma comparación realizada con los resultados obtenidos en la evaluación de 2008 y teniendo en cuenta lo que afirman Figueroa *et al.*, 2009, descriptivamente cerca de las tres cuartas partes del área foliar están destruidas. Solamente unas pocas hojas permanecen, hay frutos pequeños color verde pálido o amarillo, presencia severa de *stem pitting*, ramas secas por taponamiento del sistema vascular debido a partículas del virus y producción mínima, casi nula. Ubicando la plantación en la escala de Ndongo *et al.*, 2007, esta tiene una cubierta de bajo volumen, desecado de ramas en la totalidad de la corona, lo que la ubica en el nivel 1 de dicha escala (Figura 1). Graficando los datos recopilados, se ilustra la manera de cómo ha ido avanzando la severidad en la plantación durante los últimos 11 años (1997 - 2009) (Figura 2).

Sintomatología. De acuerdo a la escala anterior propuesta por Ndongo *et al.*, 2007, para la evaluación de *stem pitting*, se realizaron cortes de ramas ubicadas en el tercio medio y en sentido opuesto unas de las otras, las cuales fueron liberadas de la corteza con el fin de exponer el leño y de esta manera poder dejar al descubierto las acanaladuras características en plantas afectadas por el CTV, y

poder evaluarlas verificando que todos los grados propuestos por el autor están presentes en el cultivo (Figuras 3 y 4).

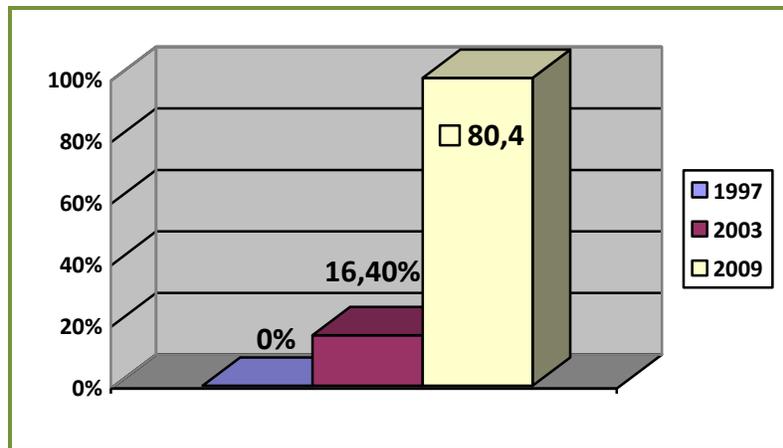


Figura 2. Evolución del índice de severidad del CTV sobre Lima Tahiti (*Citrus latifolia* T). Evaluación 2003 - 2009

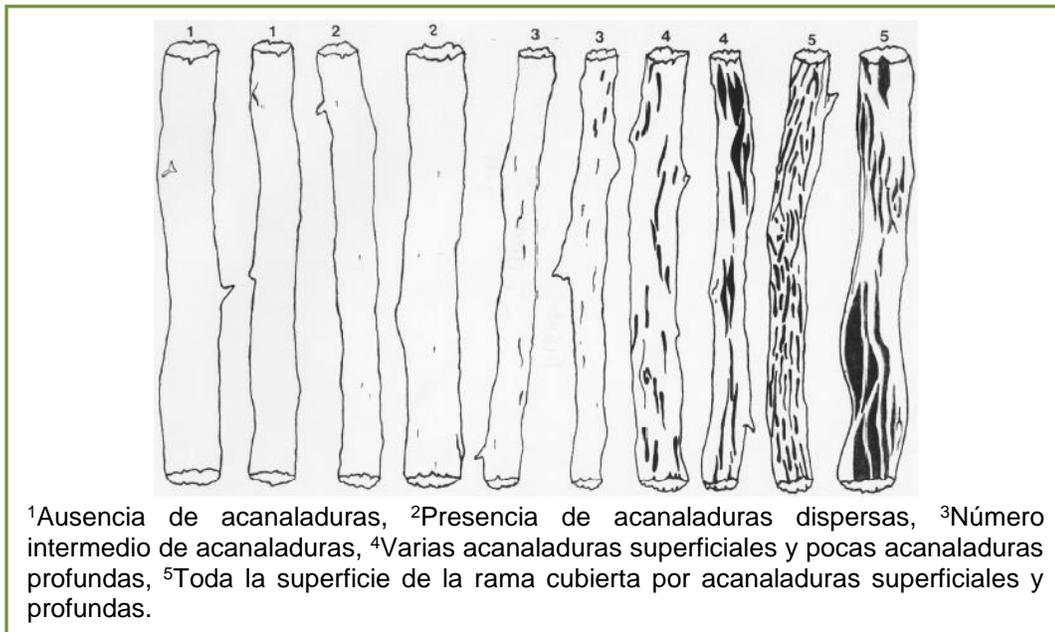


Figura 3. Escala de notas utilizando la intensidad de acanalados

La intensidad del *stem pitting* producto del CTV en un determinado momento puede variar notablemente; en ocasiones, sólo se puede observar la presencia de unas pocas acanaladuras una vez eliminada la corteza, sin embargo, en plantas

con síntomas avanzados de CTV pueden llegar a manifestarse ramas que se pueden comparar con el mayor grado de la escala de notas, acanaladuras superficiales y profundas.

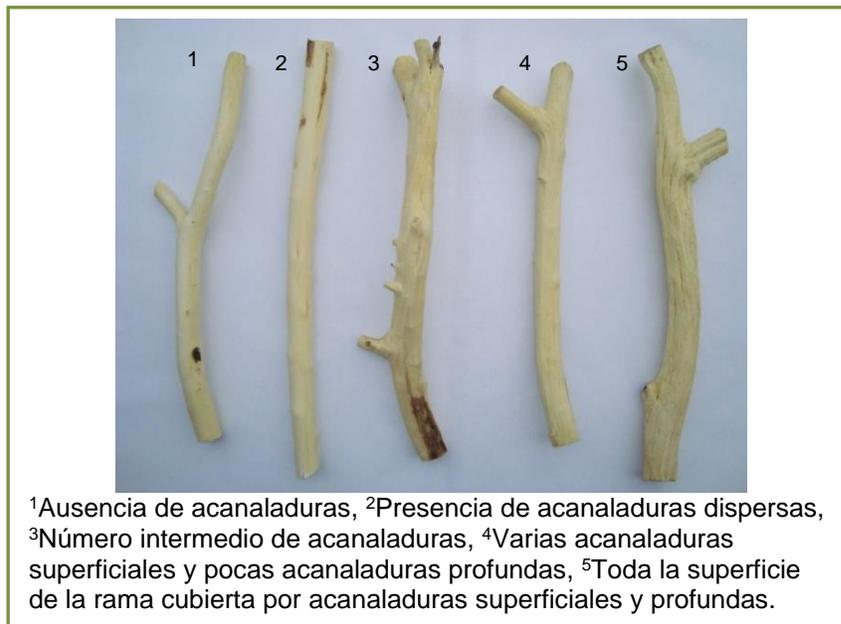


Figura 4. Ramas con distintos grados de *Stem Pitting* (Foto Autores)

En los cortes hechos a ramas del cultivo se observaron estrías o acanaladuras longitudinales a nivel del xilema, donde presentaban proyecciones puntiagudas de la corteza, estas se unían perfectamente con las hendiduras presentes en la las ramas cortadas, según Brlansky *et al.*, 2002, estos síntomas conducen a una pérdida de productividad de las plantas afectadas, la anterior afirmación se ratifica en el lote de lima Tahití *La Libertad*, el cual tuvo una disminución progresiva en su producción a través del tiempo.

En el tronco se observó la presencia de partes deprimidas en la corteza, y una vez retirada ésta, fue notoria la presencia de acanaladuras de distintos tamaños en cuanto a su longitud y profundidad, se puede concluir que los árboles pueden seguir creciendo vigorosamente con la presencia de este tipo de acanaladuras, no obstante algunas ramas pueden ser frágiles y quebrarse con facilidad, adicional a

esta característica, en las zonas donde aparece la mayor concentración de estrías o acanaladuras la corteza es de espesor anormal, siendo esta más gruesa.

Necrosamiento del sistema vascular. Diferentes autores, han definido que las partículas del virus se acumulan en los tejidos del floema, causando los efectos citopatológicos característicos, los cuales corresponden a necrosamiento, debido a que en el cambium vascular, algunas de sus células y sus derivados se colorean y, sufren hipertrofia, caracterizándose por ser una masa anormal donde deben formar células normales de xilema y floema; las coloraciones de las células se observan en los cortes longitudinales y transversales realizados a los árboles de lima Tahití (Figura 5).



Figura 5. Cortes transversales y longitudinales de árboles de Lima Tahití. (Fotografía: Autores)

Al aparecer estas acumulaciones en las células del floema, los vasos conductores terminan colapsando, por ende, el sistema radicular de la planta se ve afectado, debido a la falta de translocación de fotosintetizados, por lo tanto, esta termina muriendo. Las hojas y frutos de arboles afectados por el CVT particularmente a nivel de sus hojas presentan tamaño reducido, una clorosis y amarillamiento intervenal, la cual puede llegar a ser confundida con la deficiencia de algún elemento, principalmente los menores. Además, las hojas pueden deformarse, a manera de entorchamiento, sus brotes nuevos muestran atrofia, el cual se

ve reflejado en el tamaño final de sus frutos, quedando pequeños y poco productivos. Cuando el ataque del CTV es severo, las hojas se secan y caen, o algunas veces estas se secan y quedan adheridas al árbol (Figura 6). Esta misma sintomatología la encontraron Vázquez *et al.*, (2005) en plantas de *Citrus latifolia* Tanaka.



Figura 6. Hojas y árbol de lima Tahití expuesto a CTV

Los frutos tienen características no deseables a la hora de comercializarlos, debido a que estos son de tamaño pequeño generalmente, deformes en algunos casos y de color pálido, lo cual los hace no agradables al consumidor, lo que dificulta o imposibilita el mercadeo. Además, los frutos provenientes de plantas afectadas por el CTV (Figura 7), poseen bajos contenidos de jugo en algunos casos, y con semillas poco desarrolladas en comparación con frutos de plantas sanas. Igualmente, que con los síntomas presentes en las hojas cuando la severidad es alta, generalmente los frutos se secan, sufriendo una momificación que hace que estos queden sujetos a las ramas a través del pedúnculo.

El cultivo de lima Tahití expuesto al CTV durante 11 años, presentó un aumento gradual en su producción hasta el año 9, momento en el cual se obtiene el mayor pico, el cual posteriormente decae. Por lo tanto, la vida útil del cultivo de lima Tahití se ve influenciada por la enfermedad, y bajo estas condiciones se obtiene rentabilidad hasta el año 10 después de establecido; a partir de ese momento se

hace necesario pensar en renovación o sustitución de la plantación ya que económicamente no presenta viabilidad alguna.



Figura 7. Comparación de frutos de plantas sin sintomatología visible de CTV y frutos de plantas afectadas severamente por CTV

Extrapolando los datos de producción obtenidos de una densidad de plantación igual a 490 plantas/ha en el centro de investigación *La Libertad*, a plantaciones tenidas como testigo regional 208 plantas/ha, se puede inferir un comportamiento similar en las dos densidades, por cuanto ambas se encuentran en una zona con características ecológicas similares.

Desde el punto de vista económico, comparando el testigo regional 208 plantas/ha con la densidad de plantación 490 plantas/ha, no se recomienda la primera densidad, en cuanto su producción retorna los gastos generados en un mayor tiempo. Los costos para el establecimiento de una hectárea de lima Tahití tecnificada dependerán de la densidad de plantación que se elija. Asimismo, una densidad de plantación de 208 plantas/ha, ubica su punto de equilibrio en un lapso de tiempo mucho mayor que el de la densidad de 490 plantas/ha. Teniendo en cuenta este argumento se recomienda no sembrar a la densidad utilizada en el testigo regional. De otro lado la tasa interna de retorno (TIR), que es un indicador de rentabilidad, el cual muy débil a la hora de tomar una decisión para el posible

establecimiento de plantaciones futuras, porque no tiene en cuenta que la vida útil del cultivo está influenciada por sanidad de éste, la cual es afectada severamente en Colombia por el CTV. Financieramente basados en la TIR, se recomienda el establecimiento de 490 plantas/ha, ya que este indicador es mayor que el resultante del testigo regional.

Resumiendo, se puede decir que el virus de la tristeza de los cítricos afecta negativamente el cultivo de lima Tahití, ocasionando patologías que influyen en la producción y vida útil; estos dos factores intervienen económica y financieramente a la hora de pensar en nuevos establecimientos.

CONCLUSIONES

El aumento gradual en la incidencia del CTV sobre la lima Tahití establecida en CORPOICA *La Libertad*, afectó la producción, reduciéndose hasta en 93% a partir noveno año. Además, al igual que la incidencia del CTV sobre este cítrico, la severidad también afecta la producción del cultivo. El cultivo expuesto al virus del CTV durante 11 años, al comienzo aumentó gradualmente su producción hasta el año octavo, momento en el cual se obtiene el mayor pico, el cual posteriormente decae.

También se apreciaron árboles con diferentes grados de afección por el CTV, actualmente la enfermedad se encuentra afectando aproximadamente el 80% del tejido frente a un 16% que estaba afectado en el año 2003, la severidad ha aumentado en un 20% desde el año 2003 hasta la fecha. Asimismo, la literatura reporta que el CTV posee síntomas característicos, entre ellos se destaca *el stem pitting*, Los árboles de lima establecidos en CORPOICA presentaron este síntoma a nivel de tronco y ramas.

En las ramas los árboles se presentaron *stem pitting* en diferentes grados o escalas, según la propuesta por Ndongo *et al.*, (2007) donde acanaladuras eran superficiales dispersas en algunas partes de la planta o profundas continuas en otras partes. En los cortes realizados transversal y longitudinalmente en troncos y

ramas, se observa necrosamiento, atribuyendo el declinamiento en la producción a este síntoma. En órganos esenciales para la producción como las hojas, se observan síntomas característicos; clorosis intervenal, abarquillamiento y brotes poco desarrollados conllevando a obtener frutos pequeños con escaso jugo y de color verde pálido.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Agrios G. N. Fitopatología. Publicado por Editorial Limusa S.A. De C.V. 721 p. 2005.
2. Bar-Joshep M., Marcus R., Lee, R. F. The continuous challenge of citrus tristeza virus control. *Ann. Rev. Phytopathol.* 27: 291-316. 1989.
3. Brlansky R. H., Howd D. S., Broadbent P., Damsteegt V. D. Histology of sweet orange stem pitting caused by an Australian isolate of citrus tristeza virus. *Plant Dis.*, 86: 1169-1174. 2002.
4. Cambra y Moreno P. Enfermedades de los cítricos. Madrid, Ediciones Mundi-Prensa. Vol. 2, 213 p. 2000.
5. Cambra y Moreno, Serra J., Martínez J. C., Villalva D. Situación de la tristeza de los cítricos en la Comunidad Valenciana. *Levante. Agrícola*, 29 (305): 288-296. 1990.
6. Campbell C. W. Rootstocks for the Tahiti Lime. Tropical Research and Education Center I FAS, University of Florida. *Proc. Fla. State Hort. Soc.* 104: 28-30. 1991.
7. Cañizares A., Descripción morfológica de Lima Tahití, Centro de investigaciones agropecuarias del estado Monagas. FONAIAP. 2000.
8. Cañizares A; Sanabria M; Rojas E. Anatomía de la hoja de Lima Tahití (*Citrus latifolia* Tanaka), *Revista UDO Agrícola*, 5 (1): 68-73. 2005.
9. Colauto Stenzel N. M., Vieira Janeiro Neves C. M. Rootstocks for 'Tahiti' Lime. *Sci. Agric. (Piracicaba, Braz.)*, 61 (2) p 151-155. 2004.
10. Forner M. A., Forner J. B. Comportamiento de nuevos patrones frente a enfermedades y fisiopatías. Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias. *Revista D'informació Técnica Comunidad Valenciana Agraria.* 23: 9-14. 2003.
11. Figueroa, J; Foguet, L.; Figueroa, A.; Stein, B. Biological characterization of Citrus tristeza virus strains in lemon in Tucumán, Argentina. *Rev. ind. agric. Tucumán*, 86 (1): 37-41. 2009. Recuperado 23 de Octubre de 2013. Disponible En: http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1851-30182009000100005&lng=es&nrm=iso
12. Juncal Ll. J. N.; Fernández Del A. O.; Borges S. M. Los áfidos de los cítricos en Cuba. Instituto de Investigaciones en Fruticultura Tropical p 5. Disponible En: <http://www.fao.org/docs/eims/upload/cuba/1037/cuf0005s.pdf>
13. López J. A.; Cardona J. H. Boletín Técnico N. 30. CENICAFE. Evaluación de porta injertos de cítricos en la zona central cafetera de Colombia. p 12. 2007.

14. Meissner P. E., Soares W. dos S., Velame K. V. C., Diamantino E. P., Diamantino M.S.A.S. Reação de porta-enxertos híbridos ao *citrus tristeza virus*. *Fitopatologia Brasileira*, 27: 312-315. 2002.
15. Mendoza A., Salazar C., Alvarado O., Cruz M. A., Barrera H. Diferenciación molecular de razas severas y débiles de aislamientos del virus de la tristeza de los cítricos en México. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 26 (4): 223-230. 2003.
16. Muller G. W., *et al.*, Citros, Doenças de citros causadas por vírus e viróides., Centro APTA Citros Sylvio Moreira, 569-575. 2005.
17. Ndongo B., Ambang Z., Belibi Messanga L., Ngodo M. J. B., Ongono Y. Vigour and behaviour of fifteen citrus varieties against tristeza in the forest zone of Cameroon. Department of Plant Biology, Faculty of Sciences, University of Yaoundé I. *African Journal of Biotechnology*, 6 (12): 1403-1409. 2007.
18. Orduz J., A. Evaluación de patrones en cítricos en suelos ácidos en condiciones de vivero en el Trópico bajo de Colombia. p 24. 2003.
19. Reuther W., Clair C. E., Carman G. E. The Citrus Industry, Vol. IV, Diseases and Injuries; Viruses; Registration, Certification, Indexing; Regulatory Measures; Vertebrate Pests; Biological Control of Insects; Nematodes. Division of Agricultural Sciences, University of California, Berkeley. p 87-108. 1978.
20. Rodríguez P. A. Universidad Nacional de Colombia, Trabajo presentado para optar al título de Magíster en Microbiología, Estimación de variabilidad del gen de la proteína de capsídeo mayor del virus de la tristeza de los cítricos (CTV) en aislados de Lima Tahití (*Citrus latifolia*) a través de SSCPS, RFLPS y sondas marcadas. p 13-16. 2005.
21. Stephen H. F., Ronald H. B. Field diagnosis of citrus tristeza virus. Institute of Food and Agricultural Sciences. 2005.
22. Timmer L. W., Stephen Michael Arnsey, Graham J. H. American Phytopathological Society Edition: 2, illustrated, Plagas y enfermedades de los cítricos, Published by Mundi-Prensa Libros, p 62. 2002.
23. Vázquez U., Ochoa D. L., Soriano E., Aguilera G. Sintomatología e histopatología del amarillamiento letal de la lima persa, *Citrus latifolia* Tanaka. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 23 (2): 169-175. 2005.

El achiote *Bixa orellana* L. como posible alternativa productiva para el Departamento del Meta

The achiote *Bixa orellana* L. as productive possible alternative to Meta Department

Quiñones Bravo Ximena¹ y Yunda Romero Myriam Constanza²

¹Ing Agr. Unillanos y ²Ing. Agr. Esp. MSc. Docente Unillanos

cyunda@unillanos.edu.co

Recibido 15 de Enero de 2014, Aceptado 11 de Abril 2014

RESUMEN

Se realizó un análisis del achiote *Bixa orellana* L. como posible alternativa productiva de desarrollo industrial para el departamento del Meta, mediante la recopilación de información de investigaciones sobre esta planta y las experiencias de países como Perú, en los cuales el achiote es uno de los principales productos de exportación. En primer lugar, se generó un marco de referencia centrado en las características fenológicas, requerimientos climatológicos, aspectos agronómicos, de procesamiento y mercados. Esta especie amazónica, se encuentra distribuida en 19 de los 32 departamentos del país, se adapta a suelos químicamente pobres, siempre que presente buenas condiciones físicas (texturas franco arenosas) para el desarrollo radicular, las mejores producciones se logran en altitudes menores a los 800 msnm, es un buen demandante de agua y para evitar problemas patológicos a nivel de las semillas, es importante no tener humedades relativas por encima del 80%. Los principales insectos que causan daño son los chupadores como los chinches (*Leptoglossus zonatus*), los masticadores como las hormigas (*Atta mexicana*) y barrenadores de la capsula (*Milgithea melanoleuca*). Entre los principales patógenos que pueden afectar el cultivo están los hongos *Oidium bixaea*, *Collectotrichum gloeosporioides*, *Crinipellis perniciosus*, *Fusarium* sp. y *Cercospora bixae*. La producción de cápsulas por hectárea puede variar dependiendo de la zona y sobre todo del

manejo del cultivo, encontrando producciones por hectárea mayores a 5 toneladas y menores de 1 tonelada. En conclusión, la creciente demanda mundial de colorantes naturales, la oferta agroclimatológica del departamento del Meta, la cercanía a la capital como principal mercado para la comercialización de este producto en la cadena productiva de plantas aromáticas y medicinales son oportunidades para el desarrollo económico de esta planta.

Palabras clave: Achiote, *Bixa orellana*, colorante natural.

ABSTRACT

An analysis of *Bixa orellana* L. achiote productive as possible alternative for industrial development Meta was performed by collecting information on this plant research and the experiences of countries like Peru, in which the annatto is one of the main export products. First, a framework focused on phenology, climatic requirements, agronomic, processing and markets was generated. Was found that this amazon species is distributed in 19 of the 32 departments, fits chemically poor soils, provided they present good physical condition (sandy loam texture) for root development, the best yields are achieved at lower altitudes 800 m, is a good user of water and to prevent pathological level seed problems, it is important not to have relative humidities above 80%. The main insects that cause damage are sucking bugs as (*Leptoglossus zonatus*) chewing like ants (*Atta mexicana*) and capsule borer (*Milgitha melanoleuca*). The main pathogens that may affect the crop are fungi *Oidium bixaea*, *Collectotrichum gloeosporioides*, *Crinipellis perniciosus*, *Fusarium sp.* and *Cercospora bixae*. The capsule production per hectare can vary depending on the area and especially crop management, finding productions per hectare greater than 5 tons and less than 1 ton. In conclusion, the increasing global demand for natural dyes, the Meta offer agroclimatic, proximity to the capital as the main market for the trading of this product and the development of the productive chain of aromatic and medicinal plants are opportunities for the economic development of this plant.

Keywords: Achiote, *Bixa orellana*, natural dye.

INTRODUCCIÓN

El achiote *Bixa orellana*, es una planta de un gran potencial, por su contenido de Bixina en las semillas, usado como colorante natural, el cual se está posicionando en el mercado de los colorantes naturales, con un fuerte incremento de la demanda en los últimos cinco años por parte de los países desarrollados, puesto que es utilizado por diferentes industrias como la textil, cosmética, de alimentos y farmacéutica (Giuliano *et al.*, 2003).

El uso de los colorantes de origen natural se ha incrementado, en el año 2009 tenía un valor estimado de US\$1.450 millones, en la actualidad está alrededor de 40.000 a 50.000 toneladas anuales, y se espera que en el 2015 el valor del mercado mundial pueda llegar a US\$1.6 billones con un aumento en el futuro de 10% de su nivel actual. De 2005 a 2009, el mercado mundial de colorantes naturales aumentó casi 35%, su alta demanda se debe a la exigencia en las industrias alimenticias, farmacéuticas, cosméticas, además se cumple con los requerimientos contemplados en las legislaciones de algunos países (Pérez y Rojas, 2010).

En la actualidad tanto consumidores como industriales prefieren la utilización de estos productos de origen natural debido a su biodegradabilidad y baja toxicidad, contrario a lo que ocurre con los colorantes artificiales que pueden contener compuestos químicos que llegan a ser tóxicos (James *et al.*, 2003). El consumidor más allá de satisfacer sus necesidades cuida su salud. En la búsqueda de opciones para responder a las tendencias mundiales se reconoce la exigencia de una oferta de especies vegetales con posibilidades de uso como colorantes naturales, los cuales están contenidos en las semillas del achiote (*Bixa orellana* L.), y que actualmente tiene buena aceptación en las industrias de cosmetología, alimentos, textil y farmacéuticas.

El achiote es una especie originaria de América tropical, posiblemente del suroeste de la amazonia, puede tener una vida útil de hasta 50 años, presentando su primera cosecha a partir de los 15 a 18 meses, obteniendo rendimientos que

oscilan entre 800 y 960 kg/ha, aunque sus producciones pueden llegar hasta 2.500 kg/ha en plantaciones con un buen manejo agronómico. Los países líderes en investigación sobre el achiote, con experiencias en su manejo como sistema productivo y quienes a nivel de Latinoamérica se reconocen como los principales exportadores son Perú, México, Costa Rica, El Salvador y Brasil. El principal productor de achiote es Perú con un 35% de la producción mundial, seguido de Kenia, mientras que Estados Unidos es el principal demandante de achiote en forma de polvo (INIA, 2009).

Los usos de *Bixa orellana* son muy amplios, se reportan propiedades farmacéuticas por su acción cicatrizante, antioxidante, microbiana y antiparasitaria entre otras (James *et al.*, 2003); su madera se utiliza en la elaboración de muebles, mangos para herramientas y en construcciones; el aceite de la semilla es emoliente y se utiliza en la elaboración de productos cosméticos. El achiote hace parte de la cadena productiva de plantas aromáticas, medicinales y condimentarias, dentro de ésta se cataloga como especie priorizada (teniendo en cuenta las tendencias históricas, presentes, futuras en diferentes mercados y la disponibilidad de oferta actual y potencial), lo cual fundamenta aun más la posibilidad de considerarlo como alternativa productiva para el departamento del Meta.

MORFOLOGÍA DE LA PLANTA

Es un arbusto o árbol pequeño, perennifolio o caducifolio, de 2 a 5 m (hasta 10 m) de altura, con un diámetro a la altura del pecho de 20 a 30 cm; su sistema radical es pivotante y muy largo; su copa es redondeada y densa, sus hojas simples, alternas, grandes y lustrosas, ovadas, de punta larga en el ápice, con pecíolos delgados y largos, acorazonadas en la base, con puntos notables de color marrón en el envés, de 9 a 19 cm de largo por 6 a 11 cm de ancho; el tronco es cilíndrico, las ramas jóvenes son delgadas y la corteza externa es de color café claro, algo fisurada, y se desprende fácilmente en largas tiras; internamente amarilla o

amarillo-anaranjada, con savia del mismo color, pegajosa y ligeramente amarga (Bonilla, 2009).

Las flores (Figura 1) son compuestas, actinomorfas, de sexualidad hermafrodita, dispuestas en panoja, poseen cáliz de cinco pétalos libres de prefloración imbricada y cinco sépalos; tiene estambres indefinidos, libres en la base, con filamentos filiformes, de color blanco, amarillo y violeta; posee anteras bitecas y de dehiscencia poricida; el ovario es elevado por un ginóforo y adopta la apariencia de ser supero, con rudimentos seminales que varían de 10 a 60 por capsula; unilocular, a veces con falsos tabiques, pluriovulado, estilo filiforme, y con estigma bilobulado; dependiendo de la coloración de la flor, las capsulas son verdes, rojizas o amarillas (Bonilla, 2009).



Figura 1. Flores de diferentes colores de *Bixa orellana L.*
Tomado de Bonilla, 2009.

El fruto es una cápsula ovoide a globosa, pardo-rojiza, de 3 a 5 cm de largo por 3 a 4.4 cm de diámetro, dehiscente por 2 valvas, erizado de pequeños agujones delgados y blandos hasta de 6 mm, conteniendo aproximadamente 50 semillas, las cuales son rojas casi triangulares algo comprimidas y pequeñas, de 5 a 5.5 mm de largo por 4 a 5 mm de ancho, con una testa pulposa de color rojo y albumen carnoso, los cotiledones son planos (Bonilla, 2009).

CARACTERÍSTICAS FISICOQUÍMICAS DE LA SEMILLA DEL ACHIOTE

El principal constituyente colorante de la semilla del achiote es la bixina, que se encuentra en la cubierta exterior del fruto, y representa más del 80% de los pigmentos presentes, lo cual facilita su extracción; sus componentes principales son: resina, materia colorante amarilla denominada Orellina, aceite volátil, aceite graso, y en un 80% la materia colorante roja conocida como bixina. Según diferentes fuentes, la composición tanto química como nutricional de los pigmentos de la semilla del achiote es muy variada (Tabla 1) (Devia y Saldarriaga, 2003).

Tabla 1. Composición química y nutricional de los pigmentos del achiote

Composición Química		Composición nutricional (mg/100 g)		Composición de pigmentos g/ 100 g)	
Humedad	8 - 13%	Calcio	7	Proteínas	12.3 - 13.2
Proteína	13 - 14.24%	Fosforo	10	Pectinas	0.23
Celulosa	13.8%	Hierro	1.4	Carbohidratos	39.91 - 47.9
Fibra cruda	18.48%	Vitamina A	45	Ceniza	5.44 - 6.92
Almidones	11.45%	Riboflavina	0.2	Taninos	0.33 - 0.91
Carbohidratos	39.91%	Niacina	1.46	Pentosanos	11.35 - 14.97
Ceniza	4.5 - 7.97%	Tiamina	0.39	Carotenoides	1.21 - 2.3
Energía	54 Kcal	Acido Ascórbico	12.5	β-carotenos	6.8 - 11.3 mg

Fuente: Tomado de Devia y Saldarriaga, 2003

El principal componente del colorante de la semilla del achiote es la bixina de color rojo oscuro, que es un ácido carotenóico de fórmula empírica $C_{25} H_{30} O_4$, que se presenta como isómero geométrico del tipo cis, pero que puede convertirse a su forma trans, más estable. Es insoluble en agua y ligeramente soluble en cloroformo, aceites vegetales, acetato de etilo y propilenglicol. Al hervir la bixina en una solución de álcali, se forma una molécula de metanol y una sal dipotásica que, por acidificación, produce el ácido dibásico norbixina, $C_{24} H_{28} O_4$, pigmento carotenóide soluble en agua (Devia y Saldarriaga, 2003).

IMPORTANCIA DE LA ESPECIE *Bixa Orellana*

Importancia económica

El achiote presenta una gran demanda y acogida en los países desarrollados por sus diversos usos como colorante en la industria alimenticia, en productos cosméticos, telas y sedas, además de algunos usos medicinales; esto lleva a la necesidad de aumentar la frontera agrícola y de generar un valor agregado sobre el cultivo (Cabrera y Piza, 2010).

Importancia ecológica y ambiental

La planta de achiote produce anualmente una cobertura de hojarasca, proporcionando una fuerte cantidad de biomasa lo que permite la formación de humus en el suelo, también es fuente productora de oxígeno por formar una masa boscosa. Asimismo, existen reportes del uso como barrera rompe viento, plantada en una sola hilera forma una cortina muy efectiva, también tiene un beneficio ornamental puesto que las flores, conspicuas y frutos espinosos le dan un aspecto muy llamativo (Bonilla, 2009).

Importancia farmacológica

Debido a la abundante evidencia etnomédica que apoya las potencialidades terapéuticas del achiote, se han realizado múltiples estudios para determinar su actividad biológica (Lourido y Martínez, 2010), a continuación, se describen los más representativos.

- Acción cicatrizante. Se utilizó un extracto alcohólico de *Bixa orellana* en piel lesionada de conejos en Nueva Zelanda y se logró una recuperación de la lesión total a los 3 días de la aplicación del producto (González *et al.*, 2003). También se empleó una crema al 5 y 10% en conejos y ratas con heridas quirúrgicas o accidentales y se comprobó un fuerte efecto cicatrizante.
- Acción antioxidante. Se evaluó el efecto de la norbixina en la respuesta al daño del ADN inducido por radiación UV, peróxido de hidrógeno (H₂O₂) y

anión superóxido (O_2) sobre células de *Escherichia coli*, y se determinó que la norbixina era capaz de proteger a la célula ante estos agentes. La norbixina aumentó la supervivencia de la célula en al menos 10 veces (Júnior *et al.*, 2005). Otros experimentos demostraron que la bixina actuaba como antioxidante interceptando los radicales libre generados por el daño cromosómico inducido por el agente cisplatino (Antunes *et al.*, 2005).

- Acción antimicrobiana y antiparasitaria. Se considera que la planta *Bixa orellana* puede ser una fuente potencial para la obtención de nuevos agentes antimicrobianos, se ha considerado que la 9-cis-norbixina y todo-trans-norbixina son los responsables de sus propiedades antimicrobianas, los resultados de varios estudios demostraron que el achiote tiene efectos inhibidores sobre varios patógenos (Tabla 2). También se detectó actividad ante la *Neisseria gonorrhoeae*, *Trichomonas vaginalis*, *T. faecalis*, y *Leishmania*, siendo superior contra gérmenes gram positivos, aunque también se demostró en algunos gram negativos (Pérez y Martínez, 2010).

Tabla 2. Acción inhibidora de achiote sobre algunos patógenos

Patógeno	Concentración (V/V)
<i>Bacillus cereus</i>	0.08 %
<i>Clostridium perfringens</i>	0.31 %
<i>Staphylococcus aureus</i>	0.16 %
<i>Streptococcus thermophilus</i>	0.63 %
<i>Lactobacillus casei</i> subsp. <i>Casei</i>	0.63 %
<i>Lactococcus lactis</i>	0.63 %
<i>Paenibacillus polymyxa</i>	0.63 %
<i>Listeria monocytogenes</i>	1.25 %
<i>Enterococcus durans</i>	2.5 %

Fuente: Pérez y Martínez, (2010)

- Acción hipoglicemiante. Estudios realizados en animales, permitieron demostrar la influencia del achiote en episodios hipoglicémicos mediados por un incremento de la concentración de insulina en el plasma, así como, un

incremento en la unión de la insulina a sus receptores por un aumento de la afinidad entre ambos (Lourido y Martínez, 2010).

- Acción hipolipemiente, vasorelajante y hepatoprotectora. En relación con las propiedades hipocolesterolémicas se realizó un estudio en perros, ratones y conejos, que demostró la eficacia (reducción de forma significativa concentraciones de colesterol) del extracto de achiote obtenido de la maceración de las semillas, en las pruebas clínicas, los resultados se confirmaron a los 10 días de la ingesta, por lo tanto los pigmentos pueden acelerar el metabolismo de las grasas, al ser responsables de la reducción de los triglicéridos y colesterol del que, por algún mecanismo aun no descrito, solo reduce la fracción mala (Toledo de Oliveira *et al.*, 2004). Efectos hipotensores también han sido reportados para los extractos de achiote (Vontron *et al.*, 2003).
- Acción antimutagénica y antígenotóxica. Un estudio evaluó el potencial antimutagénico de la norbixina contra mutágenos oxidantes en *Salmonella typhimurium* y detectó una inhibición máxima de un 87% contra este cambio inducido por el peróxido de hidrógeno, sin embargo, se considera que, aunque los datos indican que la norbixina protege frente al daño oxidativo, puede tener efecto pro-oxidante frente al ADN bajo determinadas condiciones. Resultados muy favorables, se observaron en la prevención del daño al ADN en cultivos de linfocitos humanos con el empleo de un extracto de bixina. Por otra parte, los resultados de un estudio realizado en ratas Wistar sugiere un posible efecto quimiopreventivo del achiote a través de la modulación de la proliferación de las células criptales, pero no en la etapa inicial de la carcinogénesis de colon. Otros estudios describen las potencialidades del achiote para prevenir las mutaciones que conducen al cáncer junto a propóleos y algunos hongos comestibles. También se han explicado las potencialidades antimutagénicas del achiote sobre la base de ensayos que demostraron la importante acción de la bixina en la disminución de la peroxidación lipídica (proceso inducido por la formación de radicales libre) y la

proliferación de células tumorales. Gran parte de estos estudios clasifican a la *Bixa* como un suplemento nutricional antitumoral (Lourido y Martínez, 2010).

- Acción como antiagregante plaquetario. Conjuntamente con otras 16 plantas medicinales, *Bixa orellana* fue investigada para demostrar su capacidad para prevenir la agregación plaquetaria. *B. orellana* inhibió la agregación inducida por la trombina de plaquetas humanas lavadas (Kroes y Verger, 2004).
- Acción inmunomoduladora. La bixina se encuentra entre otros colorantes solubles en agua, aumenta la producción de IgM a concentraciones tan bajas como 1 mmol/L. este colorante puede regular la producción de inmunoglobulinas (Kroes y Verger, 2004).
- Acción como revelador de placa dentobacteriana. Un estudio realizado en perros Beagle demostró las potencialidades del achiote para la tinción de la placa dentobacteriana, con resultados muy similares a la tinción lograda con el revelador convencional (PLACDENT), cuya formulación es totalmente sintética, el revelador elaborado a base de *Bixa orellana* (BIXADENT), en cambio es una formulación natural (Gutiérrez, 2005).

DIVERSIDAD DE MATERIALES DEL ACHIOTE

El achiote es una especie alógama con un alto porcentaje de polinización cruzada que se acentúa cuando se propaga por semilla y en la descendencia se expresa en variedad de formas, tamaño y coloración de las cápsulas y plantas. Es un cultivo con una amplia variabilidad genética (Pérez *et al.*, 2003), éste es del orden del 56.18% entre arboles y el 14.5% entre panículas en un mismo árbol, razón por la cual se ha hecho difícil poder encontrar plantas con características fenotípicas que definan un tipo de planta, aunque hay caracteres que se mantienen en este cultivo, que están relacionados con el color de la flor que puede ser blanco o rosado; la cápsula dependiendo del tipo puede ser redonda, acorazonada, lancetada, oblonga, con setas o sin setas (Gutiérrez, 2005).

Las variedades de achiote se diferencian por las características fenotípicas que las plantas expresan al crecer; entre ellas existen diferentes tipos que las definen e identifican, tales como: flores blancas y cápsulas verdes, flores rosadas y cápsulas con diferentes tonos rojizos. El color de la corteza de los tallos se presenta en gris, rojo, amarillo y verde, sus cápsulas son verdes, rojas, naranjas, café y rojo, con semillas color rojo naranja. De manera similar, la época de floración y cosecha es otra característica que se usa para diferenciar los tipos que existen, es así que la tolerancia natural al mildu polvoriento las clasifica como susceptible o tolerante, es de anotar que también se pueden agrupar en dos tipos de plantas: dehiscentes o indehiscentes (Bonilla, 2009).



Figura 2. Cápsulas de achiote de diferentes colores. Fuente: Bonilla, 2009.

LA ESPECIE *Bixa orellana* EN COLOMBIA

En la actualidad el achiote presenta una alta demanda por parte de los países desarrollados, por sus diversos usos en la industria alimenticia, textil como tinte de velas y sedas, y en la farmacéutica (Cabrera y Piza, 2010). En este sentido, el achiote *Bixa orellana* es una alternativa productiva en Colombia, debido a que es una especie nativa la cual esta reportada en diferentes regiones del país, en 19 de

sus 32 departamentos, según los reportes de las colecciones del herbario nacional colombiano, del Instituto de Ciencias Naturales de la Universidad Nacional de Colombia, las cuales datan desde el año 1938, teniendo en el departamento del Chocó el mayor número de colectas (11). Para el caso del departamento del Meta, tiene el reporte más antiguo y registra 5 colectas.

EL ACHIOTE *Bixa orellana* COMO SISTEMA DE PRODUCCIÓN

Es una especie de fácil adaptación, se desarrolla muy bien en suelos pobres y ácidos, las plántulas crecen rápidamente, a los 4 meses alcanzan una talla entre 15 y 20 cm, en estado adulto, los árboles son de lento crecimiento. En condiciones naturales los árboles pueden llegar a vivir hasta 50 años y solo 30 en plantaciones, la producción de semillas empieza a los dos años si la plantación ha sido debidamente cuidada, pero su producción normal comienza a los 4 años. Un pequeño árbol de *Bixa* puede producir de 4,5 a 5 kg de frutos (Bonilla, 2009). El rendimiento anual promedio de un árbol adulto de cinco años es de 2,33 kg de semilla, unas 1.111 plantas por hectárea rinden en promedio 2.597 kg de semilla.

Requerimientos edafoclimáticos

Las temperaturas ideales para su cultivo se encuentran entre los 20 y 38°C, la precipitación entre 600 y 2000 mm al año y está relacionada con la condiciones del suelo, puesto que algunos favorecen el desarrollo radicular siendo menor la exigencia del agua, si el suelo tiene una estación seca de 4 a 5 meses, se favorece el desarrollo de la raíz y el achiote crece con una menor cantidad de lluvia, lluvias intercaladas con una estación seca de 4 a 5 meses, y una precipitación total de 1.700 a 2.000 mm anuales se consideran como aceptables. La humedad relativa más adecuada para el cultivo del achiote varía entre 60 y 80%, cuando es superior se propicia para el desarrollo de hongos, especialmente el *Mildu Polvoriento* y la *Antracnosis*, favoreciendo la presencia excesiva de insectos dañinos. Por otro lado, presenta un amplio rango de adaptación entre los 30 y los 1.200 msnm, sin embargo, se comporta mejor entre los 300 y 600 msnm; la producción de semillas decae cuando se establece esta planta por encima de

los 800 metros de altitud, el achiote crece pero se desarrolla con limitaciones en la producción y tiene una mayor incidencia de enfermedades. Esta planta tiene tolerancia a vientos fuertes debido su sistema radicular, sin embargo, áreas con vientos huracanados permanentes son perjudiciales para las flores y hojas, causando pérdida y daño en las ramas, adicionalmente es necesario tener en cuenta que el achiote requiere de una buena luminosidad, distribuida uniformemente sobre su copa para fructificar con mayor uniformidad. Los índices más elevados de horas de sol, corresponden al periodo de floración y fructificación, que coincide con la estación seca; la cantidad de luz necesaria es 10 horas/día. El achiote se adapta bien a las diferentes clases de suelos siempre que tengan buen drenaje, una profundidad mayor de 0.9 m, textura franco arenosa, con pendientes menores del 5%, siendo la profundidad ideal 3 m, no puede resistir suelos mal drenados, y con alto contenido de arcilla o que posean una capa endurecida. Las mejores plantaciones están normalmente en suelos con un pH de 5 a 7.5, aunque el achiote soporta pH entre 4.3 y 8.7 (Bonilla, 2009).

Propagación

Se hace comúnmente de manera sexual, que es la más utilizada, siendo necesario hacer una buena selección de la semilla para garantizar una buena plantación y establecer un vivero. La desventaja de este método radica en que, debido a la polinización cruzada del achiote, se produce una gran variabilidad de individuos y no se puede mantener la uniformidad y la calidad de los frutos, aunque permite tener plantas a corto tiempo para establecer plantaciones comerciales (Avalos, 2013).

El otro método es la forma asexual, que se hace mediante acodos, injertos, estacas o esquejes, cortes de raíz y biotecnología (clones), esto con el fin de mantener la pureza genética completa y conservar las características deseables como el contenido de bixina, el número de semillas por cápsula, el número de cápsulas por racimo, el número de racimos por árbol y tolerancia a mildu polvoriento, se utilizan varias formas de multiplicación (Avalos, 2013).

- Acodo aéreo: se hace dos meses antes de la siembra definitiva para lo cual se seleccionan los árboles y las ramas donde se colocaran los acodos, efectuando el anillado en las ramas seleccionadas, cortando la corteza en forma de anillo de 2 cm de ancho y se quita la corteza dejando al descubierto el tejido leñosos, se cubre totalmente con musgo y arena o con una mezcla de arena y materia orgánica, se coloca encima un plástico amarrándolo en ambos extremos y se le hacen agujeros, para poder regarlos y mantener la humedad de la mezcla hasta que la rama haya enraizado; esto ocurre aproximadamente a los 2 meses, sino se mantiene la humedad el acodo se puede perder (Avalos, 2013).
- Acodo al suelo: se seleccionan ramas que estén cercanas al suelo y se procede a efectuar el anillado de la misma manera que se hace para el acodo aéreo, la rama se entierra y se sujeta con unas estacas; esta listo en 2 meses para la siembra definitiva. La desventaja de esta forma de propagación radica en la dificultad de encontrar suficientes ramas para la producción masiva de plantas y hacer plantaciones de gran extensión (Avalos, 2013).
- Injerto: en primer lugar, es necesario obtener un árbol de achiote como patrón propagado por semilla; está listo cuando tiene el grosor de 1 a 1.5 cm. En segundo lugar se necesita una yema de un árbol de achiote seleccionado, este injerto es del tipo parche y consiste en quitar la corteza haciendo un corte en forma de “U” ya sea normal o invertida; la vareta corta yema deberá tener el mismo grosor que el corte en “U”, el injerto se sujeta mediante amarre con cinta plástica; aproximadamente a los veintiséis días se quita el amarre del injerto, luego 10 días más se observa si el injerto está totalmente pegado; si se hubiere pegado se procede a agobiar el patrón para estimular el brote de la yema, y cuando esté aun verde, se elimina la dominancia apical del patrón para dejar libre el injerto; al completar tres meses en los viveros los injertos están listos para la siembra definitiva. También puede utilizarse el injerto por escudete (el mismo que se utiliza en rosas y cítricos), el cual es uno de los más conocidos y requiere solamente una yema para cada injerto. Los arbolitos

se pueden injertar con yemas provenientes de una selección cuando tienen un grosor de 1 a 1.5 cm y la yema se coloca a 0.2 m del suelo (Avalos, 2013).

- Estacas. El material de madera dura leñosa se coloca en área preparada con arena mezclada con tierra o solo arena, estas áreas deben estar protegidas de la luz directa del sol, colocando sombrío sobre el área permite que la luz directa se reciba por las plántulas en las horas más frescas de la mañana y de la tarde, y no al mediodía. Es necesario mantener la humedad del suelo para garantizar el mayor porcentaje de brote de raíces, puede usarse enzimas para acelerar el brote de las nuevas raíces. Una vez enraizadas las estacas, a los dos meses se siembran en bolsas plásticas negras de vivero medidas 9" x 12" en las que permanecen durante dos meses para después sembrarlas en el terreno definitivo. Existe la misma dificultad que con acodos cuando se quiere hacer una plantación extensiva (Avalos, 2013).
- Cortes y rebrotes de raíz: el achiote puede rebrotar sin dificultad, es una forma de división vegetativa que se hace cortando la raíz estando aun enterrada, lo cual significa hacer uno o vario cortes transversales al grosor de la raíz dejándola enterrada. En el lapso de dos meses se tiene una nueva planta con características similares a la planta madre. Es ideal para hacer clones cuando se tiene poco material para propagar (Avalos, 2013).

Establecimiento de la especie

Para el establecimiento de la especie *Bixa orellana* se requiere de una etapa de vivero, la época propicia para su preparación es cuatro meses antes de la siembra en el sitio definitivo al inicio de la época lluviosa, los materiales necesarios son: bolsas negras medidas 9" x 12", tierra negra, materia orgánica, y arena, las tres en proporciones iguales; este sustrato de debe desinfectar, para ello existen varias formas como el uso de fumigantes, para lo cual se recomienda hacer eras con el sustrato, las cuales deben tener 20 cm de alto y 1 m de ancho, este sustrato debe permanecer húmedo por mínimo siete días, antes de aplicarle el fumigante, al aplicar el producto se debe regar y posteriormente agregarle Dazomet[®], en

proporción de 27 g/m², se debe incorporar inmediatamente al sustrato y cubrir con plástico transparente por quince días, posteriormente se retira el plástico y se pica este sustrato y se deja al aire libre por siete días, después de esto estará listo para llenar las bolsas.

Por cada dos metros cuadrados de era se aplica la mezcla de fungicidas de Derosal[®] + Previsur[®], en dosis de siete ml de cada producto por galón de agua, se cubre con plástico durante un día, después de esto el sustrato queda listo para llenar las bolsas. Se incorpora dos onzas de hidróxido de calcio (alcalinizante) por metro cuadrado a una era de 20 cm de alto por un metro de ancho y el largo necesario para colocar bolsas y plantas que se van a producir. Es importante que en el vivero se evite el uso de bolsas muy pequeñas, la sombra, el exceso de humedad y no es recomendable sembrar en forma tardía si no existe fuente de agua para el riego en la propiedad, las eras muy anchas y muy largas dificultan las labores de mantenimiento (Avalos, 2013).

Antes de sembrar la semilla se coloca en una solución fungicida, con el fin de evitar enfermedades por hongos, se seca a temperatura ambiente en la sombra, posteriormente, se siembra a un centímetro de profundidad, manteniendo la humedad constante en la bolsa mediante el riego diario, sin provocar excesos de humedad ya que causa pudrición de la semilla. Entre los días 5 a 21 las semillas germinan, se dejan una a dos semanas y se seleccionan las más vigorosas (Devia y Saldarriaga, 2003). Posterior a la germinación es necesario mantener la humedad sin llegar a excesos, el tiempo de permanencia de la plántula en el vivero es cuatro meses, en los cuales se debe hacer inspecciones para evitar la presencia de enfermedades y evitar el ataque de insectos plaga, además de mantener libre el lugar de malezas (Bonilla, 2009).

Preparación del suelo

Los suelos planos y semiplanos mecanizables se recomienda prepararlos con base en la condición del mismo con implementos agrícolas, en áreas onduladas y laderas, es mejor realizar el ahoyado para ofrecer condiciones favorables en el

crecimiento de la planta, utilizando herramientas manuales. Los hoyos para siembra de achote tienen dimensiones de 0.5 m x 0.5 m x 0.5 m, y deben ser cubiertos con materia orgánica por lo menos dos meses antes de la siembra definitiva (Bonilla, 2009).

Siembra

La siembra por trasplante es un sistema alternativo que permite inicialmente hacerlo en bandeja y luego sembrarlas en las bolsas para brindar mayores cuidados a la planta al inicio del crecimiento en vivero. El mantenimiento y la supervisión permiten llevar al campo plantas vigorosas, de buena calidad y que estarán listas para ser trasplantadas de 3 a 4 meses de edad (Bonilla, 2009). Los sistemas de producción agrícola moderna de plantas permanentes están orientados a las altas densidades de siembra con el manejo de plantas bajas, con el objeto de que se haga más fácil recolectar la cosecha, recomienda sembrar a distancia de 3 x 3 m para lograr una densidad de 1.111 árboles por hectárea (Bonilla, 2009). El achote se puede asociar preferiblemente con cultivos de ciclo corto y fácil manejo, por ejemplo: maíz, ají, frijol, pepino, hortalizas, plantas aromáticas y con variedades de árboles frutales o incluso árboles forestales.

Manejo del cultivo

Existe poca información sobre los requerimientos del achote, en Venezuela se han obtenido cosechas precoces y abundantes con el plan de manejo de fertilización (Tabla 3), previo a un análisis de suelo, y control manual o químico de las arvenses para evitar la competencia por luz, nutrientes, agua y espacio, de éstas con el achote, iniciando la siembra a principios del periodo lluvioso (Bonilla, 2009). El achote es relativamente resistente a condiciones de sequía, pero se debe garantizar una lamina de agua suficiente que humedezca la zona de las raíces; en sitios de alta precipitación no es necesario el riego suplementario; en lugares muy soleados, el riego por surcos una vez a la semana después de que el cultivo se ha establecido es suficiente. La lámina de agua a aplicar debe ser

suficiente para que humedezca completamente la profundidad radical del cultivo (Sahaza, 2001).

Tabla 3. Plan de fertilización en el cultivo de achiote

Etapa (meses)	N (g/planta)	P₂O₅ (g/planta)	K₂ (g/planta)
Primer año de siembra (inicio de lluvias)			
Siembra	15	30	15
3	40	0	0
6	15	30	15
12	50	0	0
Segundo año			
A floración	30	60	30
4	60	0	0
8	30	60	30
12	60	0	0
Tercer año			
A floración	60	120	60
4	120	0	0
8	60	120	60
12	120	0	0

Fuente: Sahaza, 2001

De acuerdo a un trabajo de experimentación realizado por la Universidad del Valle, se sugiere utilizar el riego por goteo para optimizar el uso del agua (Tabla 4), se hace teniendo en cuenta condiciones climáticas de esta zona del país, teniendo en cuenta que el drenaje depende de la topografía, en algunos casos no son necesarios los drenajes porque el terreno lo hace de manera natural, que para el desarrollo de las plantas, el suelo tenga el perfil y la humedad apropiada, pues las raíces de *Bixa orellana* no soporta el encharcamiento (Avalos, 2013).

Con las podas lo que se busca es estimular a la planta para producir la mayor cantidad de brotes terminales, donde se forma la flor y el fruto, esta práctica mantiene la plantación rejuvenecida y aumenta la producción, la densidad de población por unidad de superficie, facilitando la cosecha en menor tiempo y costo. Todo tipo de poda debe de efectuarse inmediatamente después de la

cosecha, existen cuatro tipos: 1) la de formación, generalmente se logra en el primer año, y consiste en dejar un solo tallo y las ramas principales a 30 cm de largo desde el tallo principal; 2) la de mantenimiento, se hace para preservación de la poda anterior, eliminando los brotes basales, y se realiza en los tres primeros años; 3) la anual de limpieza, a partir del segundo año en adelante se debe eliminar brotes vegetativos en la base de la planta y ramas secas; y 4) la poda de rejuvenecimiento o recepa se realiza a los 4 o 5 años a fin de evitar que la planta crezca demasiado alta y la cosecha pueda colectarse fácilmente, consiste en cortar el árbol severamente, dejando los brotes nuevos (Sahaza, 2001).

Tabla 4. Recomendaciones de riego para el cultivo de achiote

Fase	Frecuencia (Horas)	Litros por planta	Duración (Horas)
Prendimiento	36	10,7	1
Desarrollo	36	21	2
Productivo	36	32	3

Fuente: Avalos, (2013)

Plagas

Durante el desarrollo del cultivo del achiote se pueden presentar problemas con varias plagas, la mayoría de ellos no se consideran de importancia económica, entre los que se encuentran insectos chupadores, chinche patas de hoja (*Leptoglossus zonatus*); masticadores, el zompopo (*Atta mexicana*); araña roja (*Tetranychus sp.*); trips de banda roja (*Selenothrips rubricinctus* Girard) y barrenadores como el perforador de la cápsula (*Milgithea melanoleuca*). Una de las prácticas para su control es realizar eliminación de residuos y malezas, además de la utilización de parasitoides, depredadores y patógenos (enemigos naturales), cuando el ataque es severo, se debe implementar un control químico con la aplicación de insecticidas al cultivo (Bonilla, 2009).

- Chinche patas de hoja (*Leptoglossus zonatus*): ocasiona pérdidas económicas en la producción de achiote, cuando ataca la cápsula en desarrollo,

ocasionando daño secundario por hongos en las semillas, el cual se observa en la cápsula cuando el chinche ya lo ha provocado con su estilete, dando la impresión de que la cápsula se está madurando, también se forma una mancha necrótica en la cápsula y las semillas se cubren de un micelio de un hongo secundario. El chinche tiene hábitos gregarios en su estado de ninfa y no vuela, por lo que en esta etapa puede ser fácilmente controlado (Bonilla, 2009).

- El zompopo (*Atta mexicana*): destruye el follaje tierno, su ataque intenso puede defoliar completamente la planta y no dejarla progresar, ya sea que la planta se encuentre en su etapa juvenil o adulta; esta plaga en vivero causa muchos destrozos por lo que es necesario estar pendiente del primer ataque, para su control (Bonilla, 2009).
- Araña roja (*Tetranychus sp.*): estos ácaros se alimentan succionando la savia de las plantas, produciendo defoliación, en la época seca se presentan poblaciones mayores que agravan el daño, al secar las hojas se decoloran y caen (Bonilla, 2009).
- Trips de banda roja (*Selenothrips rubricinctus* Girard): se alimenta de la savia de las plantas, raspando el envés de las hojas dándole apariencia de requemo, ataques severos resultan en defoliación afectando la floración, la polinización y fructificación (Bonilla, 2009).
- El perforador de la cápsula (*Milgitha melanoleuca*): la hembra de la mariposa coloca los huevecillos sobre las cápsulas, la humedad y la temperatura son propicios para que eclosionen los huevecillos, al eclosionar salen las larvas que perforan las cápsulas y se alimentan de las semillas (Bonilla, 2009).
- Comején (*Heterotermes convexinotatus* Zinder): penetra en el árbol por cualquier cortadura en las raíces y perfora todo el xilema del árbol hasta que lo seca completamente, siendo el mejor control, no sembrar debajo de los 300 msnm donde exista el problema del comején. Una práctica recomendable es

no dejar dentro de la plantación ramas que se hayan podado, evitando el daño de raíces cuando se limpie las malezas del cultivo (Bonilla, 2009).

Enfermedades

Para prevenir y controlar la presencia de las enfermedades en el cultivo se recomienda utilizar semilla sana y limpia, mantenerlo libre de arvenses, evitando el encharcamiento, desinfectar las herramientas o equipo de poda, retirar del cultivo plantas enfermas o las partes de algunas de ellas que estén afectadas. Las principales enfermedades reportadas en el achiote son:

- Oídium, ceniza, moho blanco, mildu polvoriento (*Oidium Bixae*): se presenta en forma de manchas blancas, causadas por un micelio pulverulento blanquecino sobre las hojas, ramos y frutos jóvenes, provocando una defoliación, principalmente en plantas jóvenes, sobre todo en épocas lluviosas o cuando el punto de rocío es muy alto (OTCA, 1999).
- Muerte descendente o antracnosis (*Colletotrichum gloeosporioides*): los síntomas aparecen en las ramas jóvenes, las cuales pierden su follaje y se secan., avanzando la necrosis a las ramas secundarias y a las primarias, cuando la infección es severa provoca la muerte de la planta, la cual va muriéndose de arriba hacia abajo (de ahí proviene el nombre de la enfermedad) (Arce, 1999).
- Podredumbre de las cápsulas o antracnosis de las cápsulas (*Colletotrichum gloeosporioides*): este hongo ataca únicamente las cápsulas de las semillas en estado de desarrollo, en una etapa muy temprana, no se desarrollan semillas dentro de la cápsula, o las pocas q lo hacen están deformadas. Los síntomas visibles en la cápsula son la aparición de manchas negras pequeñas y circulares, que con el paso del tiempo se unen formando una mancha grande. El hongo puede penetrar el interior de las cápsulas y cubrir las semillas con un micelio blanco, destruyéndolas por completo (Arce, 1999).

- Escoba de bruja (*Crinipellis perniciosa*): este hongo causa proliferaciones (hipertrofia) anormales de los brotes laterales, así como un hinchamiento de las ramas, inicialmente estos brotes tienen una coloración verde, pero progresivamente se van secando, hasta adquirir un color marrón oscuro (OTCA, 1999).
- Pudrición de los frutos (*Fusarium sp.*): este hongo causa manchas de forma y tamaño variables, los cuales se necrosan, las semillas se pudren y son cubiertas con un micelio algodonoso, el cual se observa a través de rajaduras que se presentan en los frutos muy atacados (OTCA, 1999).
- Mancha parda de las hojas (*Cercosporae bixae*): esta enfermedad se presenta tanto en plantas jóvenes y adultas, hay presencia en las hojas de manchas irregulares de color marrón a ceniza, rodeadas por un borde púrpura y un halo amarillento u oscuro, posteriormente provoca perforaciones en la lámina de las hojas y luego una defoliación prematura. Aun cuando el hongo principal que se ha aislado es *Cercospora bixae* otros hongos como *Stiibum sp.*, *Phyllosticta sp.*, *Phoma sp.*, pueden causar los mismos síntomas y daños (Arce, 1999).
- Podredumbre de los semilleros "Damping off": es causada por hongos *Rhizoctonia*, que viven en el suelo y atacan las raíces, cuello y tallo de las plántulas recién emergidas, siendo el primer síntoma es el marchitamiento, causando posteriormente inclinación y caída de la planta (Arce, 1999).
- Pudrición negra de las raíces: ataca las raíces de las plantas jóvenes y adultas, es causada por el hongo *Rosellinia sp.* Los primeros síntomas que se observan son el amarillamiento y caída de las hojas, finalmente la planta muere; en el sistema radicular de la planta se puede observar el micelio del hongo y las lesiones (OTCA, 1999).

POSTCOSECHA

Recolección. En condiciones del trópico la primera floración aparece a los 9 meses, presentándose la primera cosecha a los 11,5 meses, en regiones muy

secas la primera cosecha es a los 18 meses, esta es de alto rendimiento (hasta 2.500 kg/ha) se presenta producción durante todo el año, aunque puede observarse dos picos de alta producción cada seis meses.

Un método para determinar la madurez de cosecha es la firmeza de la cápsula (Figura 3), al estar dura al contacto estará lista, también es útil como indicador de madurez el momento en el que la cápsula empieza a perder la intensidad de su color (Bonilla, 2009), iniciando a tornarse café. La mayoría de variedades de *Bixa orellana* presentan frutos dehiscentes y esto también puede ser un indicador de madurez, aunque se debe evitar la dehiscencia o apertura de la cápsula para que la degradación por luz no dañe o altere las propiedades de los colorantes como la bixina y la norbixina en las semillas. No es recomendable realizar la cosecha de frutos inmaduros, ya que la concentración de bixina y norbixina puede estar aún bajas, y en el manejo postcosecha los frutos pueden presentar fermentación, debido a los mucílagos que cubren las semillas frescas.



Figura 3. Cápsulas y semillas de achiote *Bixa orellana*.

Las cápsulas terminales son siempre las últimas en madurar y cuando están maduras, las inferiores pueden estar secas, los racimos deben ser cortados con tijeras bien afiladas justo por encima del primer nudo del manojo, si la cosecha se efectúa tarde, las cápsulas tendrán semillas germinadas o con hongos, lo cual afecta la calidad del producto (FAO, 2006).

Separación, pesado y limpieza. Las cápsulas se deben dejar secar hasta que las semillas se desprendan fácilmente de sus paredes, lo cual toma aproximadamente unas 50 a 60 horas de insolación (FAO, 2006), no se debe exponer las semillas a temperaturas mayores de 60°C, ni a excesos de luz, tampoco se recomienda extraer la semilla de la cápsula si ésta se encuentra húmeda. El porcentaje de humedad de la semilla debe estar entre 8 y 12%. Las semillas se pesan separadas de las cápsulas y luego se realiza una limpieza, si están muy sucias se debe lavar con agua, de lo contrario se podría hacer una limpieza con un paño húmedo (FAO, 2006).

Empaque y almacenamiento. Una vez seca la semilla con 8 a 12% de humedad, se empaca en sacos de fique o de material biodegradable, el uso de bolsas oscuras conlleva a una mejor estabilidad del colorante durante el almacenamiento, lo cual no influye en la concentración de bixina de la semilla, se puede almacenar hasta un año y medio, sin que se alteren las sustancias colorantes. Las cápsulas o las semillas separadas se deben almacenar a granel en silos o contenedores herméticos, protegidos de la luz (FAO, 2006).

PRODUCTOS Y SUBPRODUCTOS DE LA PLANTA ACHIOTE

De las ramas se obtiene una goma que es similar a la goma arábica, una resina de algunas especies de acacias que disuelta en agua se puede usar como adhesivo de algunos esmaltes cerámicos, la madera del tronco se utiliza para la construcción de muebles, en construcciones rurales, como fuente de energía y en la elaboración de implementos o mangos para herramientas agrícolas, su corteza contiene una fibra para cordelería, de la porción carnosa (arilo rojo-naranja) que envuelve a la semilla se extrae un colorante apreciado industrialmente para dar olor a productos alimenticios (queso, mantequilla), aceites, ceras, barnices, pinturas, cosméticos y fibras textiles (de seda y algodón) (Arce, 1999). Por otro lado, el aceite de las semillas es emoliente y con un contenido alto en carotenoides que le provee propiedades antioxidantes, se ha utilizado en productos para el cuidado del cuerpo como cremas, lociones y champú. La semilla

molida se utiliza para el tratamiento de enfermedades como sarampión, viruela, enfermedades del riñón, disentería y febrífugo, como astringente y ligero (Irobi, *et al.*, 1996). El polvo de las semillas es considerado como un afrodisíaco, aparte de sus propiedades estimulantes y digestivas, siendo sus semillas y frutos un antídoto eficaz contra envenenamiento por *Jatropha curcas* (dolores abdominales, diarrea, vómito, irritación de garganta, gastroenteritis) y *Manihotes culenta* (manifestaciones disneicas). De la raíz se obtiene un té hecho con pequeños vástagos y hojas que es usado como antidisentérico, afrodisíaco, astringente y para tratar infecciones de la piel, fiebres y hepatitis, los extractos en alcohol etílico de frutos y hojas han mostrado tener actividad *in vitro* contra *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* (Irobi, *et al.*, 1996).

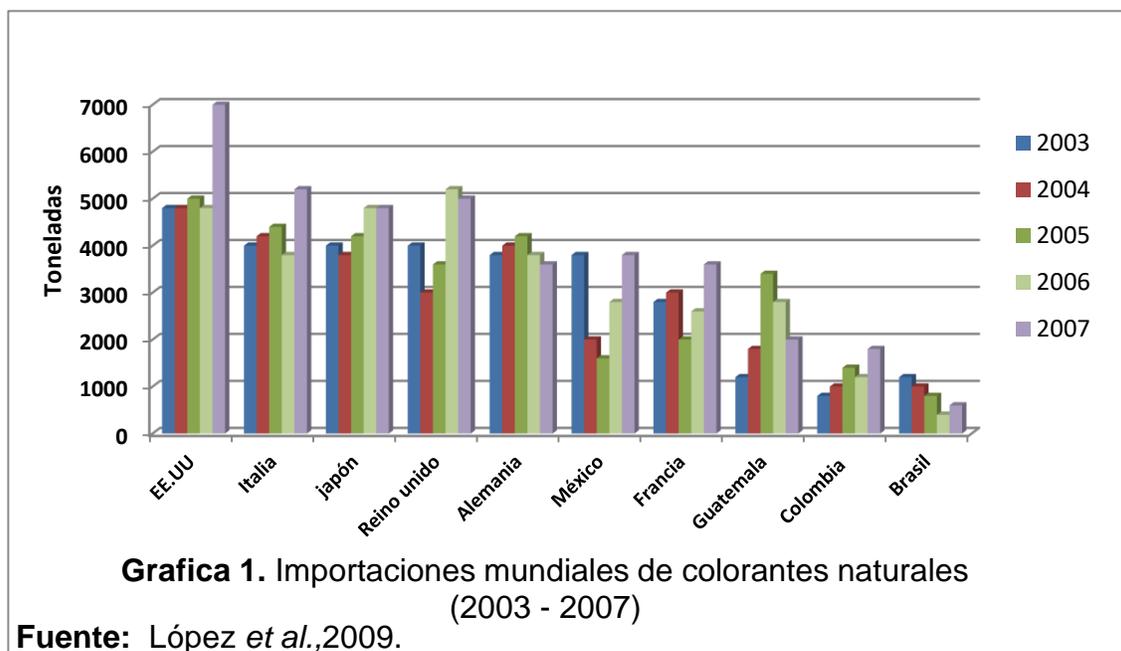
MERCADO DEL ACHIOTE *Bixa Orellana L.*

De 2005 a 2009, el mercado mundial de colorantes naturales aumentó casi un 35%, situación que continuará si se tiene en cuenta que en el procesamiento de alimentos representa alrededor del 67%, seguido por las bebidas sin alcohol con un 28% y las bebidas alcohólicas con un 5%. Entre los demandantes de estas materias primas naturales, están Europa con el 36% del mercado mundial de colorantes, seguido por Estados Unidos (28%), Japón (10%), China (8%) y el 18% restante, corresponde a países con economías desarrolladas como Canadá y Australia, y a mercados emergentes como India y Brasil (López *et al.*, 2009).

De acuerdo a información de la cadena productiva de plantas aromáticas, medicinales, condimentarías y afines, entre el 2003 y 2007 se destacan como los principales importadores a nivel mundial de colorantes, Italia, Reino Unido, Alemania y Francia, Japón también tiene una demanda importante; en el continente Americano Estados Unidos es el mayor importador a nivel mundial, México, Guatemala, Colombia y Brasil hacen parte de esos importadores de colorantes en orden de importancia de acuerdo a la Grafica 1 (López *et al.*, 2009).

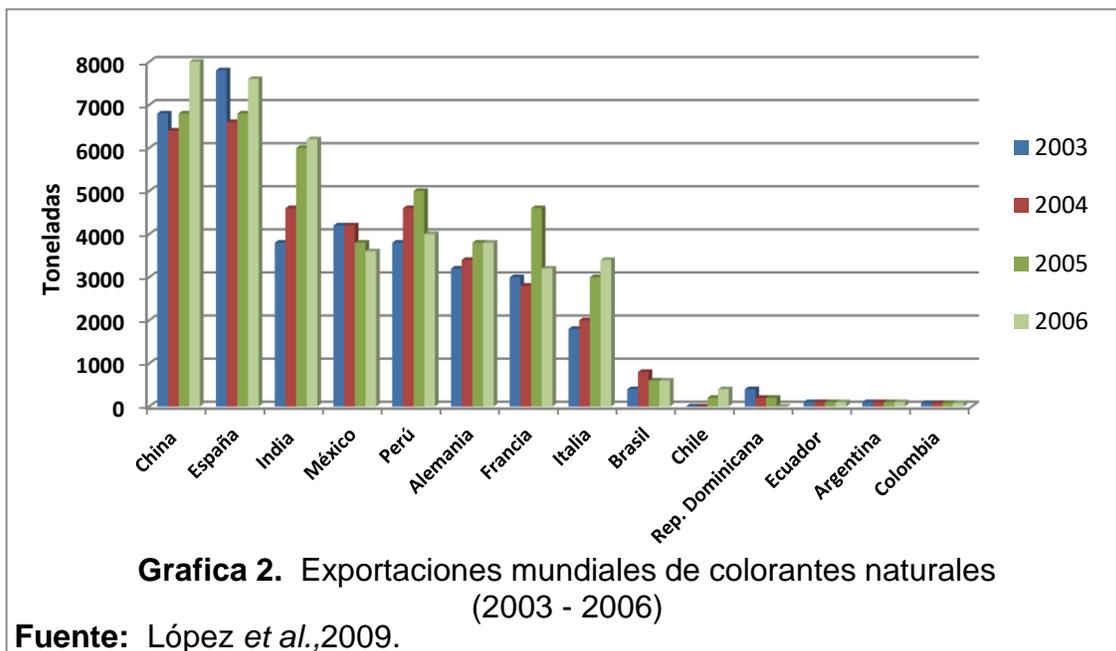
Sin embargo, en información de Proexport 2011, el país con mayor participación en las importaciones mundiales de achiote en polvo sigue siendo Estados Unidos

con un 49.35%, este país muestra un crecimiento en las importaciones de este producto entre el 2007 y 2009 del 82.33%; el segundo lugar lo ocupa Japón con un 13.3%. En Latinoamérica, México es el país con mayor participación en las importaciones con un 1.56%, seguido de Brasil con un 1.17%, Ecuador 0.56% y Perú con 0.063%. En las exportaciones de colorantes naturales de 2003 a 2007 China es el país con mayores volúmenes de colorantes naturales exportados; en la Unión Europea España, Alemania, Francia e Italia se destacan; en el continente Americano México, Perú, Brasil, Chile, República Dominicana; las exportaciones de Colombia solo se registran en el año 2006 (López *et al.*, 2009) como se muestra en la Gráfica 2.



Los proveedores de colorantes naturales en orden de mayor participación en porcentaje son: España (11.4%), Alemania (9.9%), Francia (8.7%), Holanda (8.3%), Suiza (1.1%), Australia (0.9%), Perú (7.1%), China (6.0%), India (3.9%), México (1.6%), Zimbabwe (0.9%) y Sudáfrica (0.9%) (López *et al.*, 2009). De acuerdo a información de la FAO, (2006) Perú es el primer productor y exportador mundial de achiote, representa un 35% de la producción mundial, el otro 65% proviene de Kenia, Brasil e India. Los principales países a quienes se les vende

semillas de achiote son los Estados Unidos, Costa Rica, Puerto Rico, Venezuela y Canadá. Los principales países a quienes se les vende el derivado de achiote Bixina/Norbixina son: Estados Unidos (quien está demandando este producto en diferentes concentraciones, siendo la más solicitada Bixina Cristal al 95%) Japón, Alemania y Holanda.



Importaciones y exportaciones de achiote en Colombia

Según los registros de Agronet, Colombia realizó importaciones de Achiote en los años 2007 y 2008, según esta misma estadística, ha realizado exportaciones a Hong Kong y Venezuela en los años 2007 y 2008 respectivamente, con un volumen total que no sobrepasa los 600 kg, y un precio de venta de US\$ 1.293 (MADR, 2008) (Tabla 5).

Tabla 5. Importaciones de Achiote *Bixa Orellana* en Colombia

Año	Toneladas	Origen	Precio Implícito (US\$/Ton)
2007	7,0	Perú	1.495
2009	31,5	Perú	194

Fuente: MADR, 2009.

Producción nacional y regional

De acuerdo con el Herbario Nacional Colombiano en los reportes de colecciones, se tienen registro de las colectas de *Bixa orellana* desde 1938, en 19 departamentos del territorio nacional, entre los cuales está el departamento del Meta, con el registro más antiguo y cinco colectas en los municipios de Acacias, Restrepo, Puerto Gaitán y Cabuyaro. Los desarrollos en investigación y procesamiento del achiote encontrados a nivel de Colombia están siendo liderados por la Universidad Nacional sede Palmira, Universidad del Valle en el programa manejo integral de cultivos para el fortalecimiento de la cadena productiva de plantas medicinales, aromáticas y condimentarías (López *et al.*, 2009) y la Universidad Eafit de Medellín, con un trabajo sobre el diseño de un prototipo de planta piloto para obtener el colorante de la semilla del achiote (*Bixa Orellana L.*) (Devia *et al.*, 2005).

La diversidad de sitios con condiciones agroclimatológicas diferentes, permite concluir que esta planta tiene una amplia capacidad adaptativa, en cuanto a suelos, temperatura, precipitación y altitud, por lo tanto, desarrollar un sistema productivo de achiote en condiciones del departamento es viable. Un posible limitante para el desarrollo de la especie está relacionado con la humedad relativa, puesto que si se encuentra por encima del 80% favorece el desarrollo de patógenos como *Oidium bixae* hongo causante de la enfermedad conocida como mildu polvoriento, la cual puede afectar el normal desarrollo de la planta y la producción de frutos de buena calidad, esta condición ambiental es un limitante para el desarrollo de Achiote *Bixa Orellana* en algunas zonas del departamento del Meta.

La oferta agroclimatológica del Meta, está relacionada con los corredores viales que le permite comunicarse con otras regiones y en particular con la capital del país, esto le da ventajas comparativas en aspectos como costos de transporte y transformación de las semillas en polvo o extracto de colorante. Por lo anterior, es una prioridad desarrollar conocimiento local sobre el achiote como sistema de

producción agrícola, en arreglos productivos con cultivos de pancoger, que se constituya en una alternativa social, económica y ambientalmente sostenible para el departamento, en donde una de las mayores limitaciones es la trazabilidad y el conocimiento técnico de los productos.

CONCLUSIONES

El polvo o extracto de Achiote *Bixa orellana*, es una alternativa competitiva para el mercado mundial de colorantes naturales, el cual presenta una tendencia creciente en la demanda, con países compradores como Estados Unidos, Japón, Italia, Alemania, Reino Unido y Francia, entre otros.

Las condiciones biofísicas y climáticas del departamento del Meta son adecuadas para el desarrollo del Achiote como sistema productivo, pues la planta se adapta bien en suelos de mediana a baja fertilidad, con texturas franco arenosas o franco arcillosas, con condiciones de buen drenaje, pendientes menores de 5%, precipitaciones que oscilan entre 2000 y 2500 mm y una temperatura promedio de 24°C.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Arce P. J. El Achiote *Bixa Orellana* L. cultivo promisorio para el trópico. Ed Universidad Earth. p. 49. 1999. Recuperado 15 de enero 2011. Disponible En: <http://usi.earth.ac.cr/glas/sp/90019483.pdf>
2. Antunes L, Pascoal L, Bianchi L, Dias F. Evaluation of the clastogenicity and anticlastogenicity of the carotenoid bixin in human lymphocyte cultures. *Mutat Res.*, 585 (1-2): 113-9. 2005.
3. Avalos J. M. Caracterización morfológica de dos variedades de achiote (*Bixa orellana*) en el municipio de Comalcalco, Tabasco. Tesis como requisito parcial para obtener el grado de Magister en Sistemas Sustentable de Producción en el Trópico. Colegio de Postgraduados. México. p. 50. 2013.
4. Bonilla J. Manual del cultivo de achiote. Proyecto de desarrollo de la cadena de valor y conglomerado agrícola. Nicaragua. Abril 09, 2009. Recuperado 22 de septiembre de 2010. Disponible En: <http://www.cenida.una.edu.ni/relectronicos/RENF01B715mc.pdf>
5. Cabrera I. M., Piza R. E. Importancia económica del valor agregado de los derivados del achiote en el mercado interno y externo como alternativa de desarrollo comercial y agroindustrial del sector empresarial de Manabí. Período 2005 - 2008. Tesis de grado previo a la obtención del título de

- Economista. Universidad Técnica de Manabí. Portoviejo, Manabí, Ecuador. 129 p. 2010.
6. Centro Nacional de Tecnología Agropecuaria y Forestal. Manual técnico: el cultivo del achiote, Bixa Orellana. El salvador. 19 p. Recuperado 23 de febrero de 2011. Disponible En: <http://www.centa.gob.sv/uploads/documentos/manual%20tecnico%20del%20achiote.pdf>
 7. Colmenares A. J. Manejo integral de cultivos para el fortalecimiento de la cadena productiva de plántulas medicinales, aromáticas y condimentarias en el centro del Valle del Cauca, orientado a la especie *Bixa Orellana*. Recuperado 10 de Marzo de 2011. Disponible En: <http://www.cultivo-bixaorellana.com/>
 8. Comisión Nacional para el Conocimiento y uso de la Biodiversidad, CONABIO. México. Recuperado 2 de marzo de 2011. Disponible En: http://www.conabio.gob.mx/conocimiento/info_especies/arboles/doctos/13-bixac1m.pdf
 9. Comisión Nacional Forestal. CONAFOR. Sistema nacional de información forestal. México. Recuperado 22 de enero de 2010. Disponible En: http://148.223.105.188:2222/gif/snif_portal/secciones/usos/usospdf.php?especieURL=Bixaorellana
 10. Corporación para el Desarrollo Sostenible del Área de Manejo Especial la Macarena. CORMACARENA. Plan de gestión ambiental regional 2010 – 2019.
 11. Devia J. y Saldarriaga L. Planta piloto para obtener colorante de la semilla del achiote (*Bixa orellana*). Revista Universidad EAFIT. 39 (131): 10. 2003. Recuperado 13 de diciembre de 2010. Disponible En: <http://bdigital.eafit.edu.co/bdigital/HEMEROTECA/HRU038/131Revista.pdf>
 12. Devia J. E., Constain O. V. R., Brancho D. C. A., Cruz T. D. C., Escobar P. C., Alviar H. S., Villegas M. C., Paredes A. R., Palomino H. C., Londoño S. B. E. *et al.* Pulverización de colorantes naturales por secado por atomización. Universidad EAFIT. 58 p. 2005.
 13. Fonnegra R., Jiménez S. Plantas medicinales aprobadas en Colombia. 2ª ed. Editorial Universidad de Antioquia. p 15. 2007. Recuperado 5 de enero de 2011. Disponible En: http://books.google.com.co/books?id=K8el-7ZeFpsC&printsec=frontcover&dq=medicinales+aprobadas+en+Colombia&source=bl&ots=6Cr_x6sscy&sig=Lz5hPHm7LH_XdhAcjA8Q4J1lv18&hl=es&ei=AYI_TdOOMMbXgQekm9CiCA&sa=X&oi=book_result&ct=result&resnum=5&ved=0CgE6AAQAAQ
 14. FAO, Food and Agriculture Organization. El achiote (*Bixa orellana*). Fichas Técnicas, 2006. Recuperado 14 de marzo de 2011. Disponible En: www.fao.org/inpho/content/docuemntos/vlibrary/ae620s/Pfrescos/ACHIOTE.html
 15. Giuliano G., Rosati C., Bramley P. To dye or not to dye: biochemistry of annatto unveiled. Trends in Biotechnology. 21 (12): 513-6. 2003,
 16. Gómez E., Hernández J. Plantas medicinales: 2 Métodos de cultivo: Innovación tecnológica. Vol. 16, marzo 2010. Recuperado 24 de septiembre de 2010. Disponible En:

- <http://innovacion.ciget.lastunas.cu/index.php/innovacion/article/viewFile/178/168>
17. González Y., Porta T., Méndez R., Blanco F. Estudio de la irritación dérmica primaria en piel dañada de conejos tras la exposición a un extracto alcohólico de *Bixa orellana* Lin. Apresentado Em: Conferencia Internacional de Química, 2, Santa Clara, 2003. Disponible En: <http://bases.bireme.br/cgi-bin/wxislind.exe/iah/online/?IscScript=iah/iah.xis&src=google&base=LILACS&lang=p&nextAction=Ink&exprSearch=389046&indexSearch=ID>
 18. Gutiérrez M. "Bixadent", nuevo producto natural como revelador de placa dentobacteriana. VI Congreso de la Sociedad Cubana de Bioingeniería. La Habana, 2005. Disponible En: <http://www.memsoebio.sld.cu/habana2005/arrepdf/T078.pdf>
 19. Instituto Nacional de Investigación Agraria, INIA. Acciones promisorias. Banco de Germoplasma de la SUDIRGEB. Ed Velarde Falconi David y Rios Lobo Llermé. 98 p. 2009.
 20. Irobi O. N., Moo-Young M., Anderson W. A. Antimicrobial Activity of Annatto (*Bixa orellana*) Extract., 34 (2): 87-90. 1996.
 21. James A, Duke, Mary Jo Bogenschutz-Godwin, Judi du Cellier, Peggy-Ann Duke CRC. Handbook of Medicinal Spices. Boca Raton: CRC Press; 2003.
 22. Júnior A, Asad L, Oliveira E, Kovary K, Asad N, Felzenszwalb I. Antigenotoxic and antimutagenic potential of an annatto pigment (norbixin) against oxidative stress. Genet Mol Res; 4 (1): 94-9. 2005.
 23. Kroes R., Verger P. Who Food Additives Series: 52. Annatto Extracts. World Health Organization, Safety evaluation of certain food additives and contaminants. World Health Organ Tech Rep Ser., 922: 1-176. 2004. Erratum in: World Health Organ Tech Rep Ser., 928: 157. 2005. Disponible En: <http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v52je03.html>
 24. López L. F., González D. M., Gómez J. A., Albarracín C. Agenda prospectiva de investigación y desarrollo tecnológico para la cadena productiva de plantas aromáticas, medicinales, condimentarias y afines con énfasis en ingredientes naturales para la industria cosmética en Colombia. Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural. Giro Editores Ltda, Bogotá. 184 p. 2009.
 25. Lourido H., Martínez G. La *Bixa orellana* en el tratamiento de afecciones estomatológicas, un tema aún por estudiar. Revista Cubana de farmacia. 44 (2): 231-244. 2010. Recuperado 04 de marzo de 2011. Disponible En: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S003475152010000200012&lng=es&nrm=iso
 26. Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural, MADR. Definición de la agenda prospectiva de investigación para la cadena productiva de plantas aromáticas, medicinales y condimentarias y afines con énfasis en ingredientes naturales para la industria cosmética en Colombia. Informe final. Análisis de desempeño implementación de las herramientas del sistema de inteligencia tecnológica análisis prospectivo. Bogotá, 147 p. 2009. Disponible En: http://www.agronet.gov.co/www/docs_agronet/2009713162330_Prospectiva_agronet_2009.pdf

27. Organización del Tratado de Cooperación Amazónica, OTCA. Impactos actuales y potenciales de las enfermedades de los cultivos perennes de la Amazonía y posibilidades de control para el desarrollo sostenible de la región. Tratado de cooperación Amazónica Secretaría pro tempore Caracas, Venezuela, p 91. 1999. Recuperado 23 de septiembre de 2010. Disponible En: <http://www.otca.org.br/publicacao/SPT-TCA-VEN-70bw.pdf>
28. Pérez L., Martínez G. La *Bixa orellana* en el tratamiento de afecciones estomatológicas, un tema aún por estudiar: Revista Cubana de Farmacia, 44 (2). 2010. Disponible En: http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S003475172010000200012&script=sci_arttext
29. Pérez M., Albacerra R. Al Achiote Bixa Orellana. Boletín bimestral de la Comisión Nacional para el conocimiento y uso de la diversidad. 7 (46): 7. 2003.
30. Pérez O., Rojas A. Cinética y extracción de colorantes naturales. Universidad de las Américas. 2010. Disponible En: <http://www.conocimientotextil.com/2010/05/cinetica-y-extraccion-de-colorantes.html> .
31. Pérez S., Cuen M., Becerra R. El achiote. Conabio Rev. Biodiversitas, 46: 7-11. 2003
32. Perú ecológico. Flora del Perú. Ficha técnica del cultivo del achiote. Perú. Recuperado 15 de diciembre de 2010. Disponible En: http://peruecologico.com.pe/flo_achiote_1.html
33. Productos naturales peruanos Perú Cónдор. Recuperado 23 de Septiembre de 2010. Disponible En: http://www.perucondor.com/articulos/es_achiote01.html
34. Sahaza D. El achiote (*Bixa orellana* L). Universidad Nacional de Medellín. 2001. Recuperado 3 de marzo de 2011. Disponible En: <http://www.unalmed.edu.co/~crsequed/ACHIOTE.html>
35. Toledo de Oliveira T., Nagem T., Rocha da Costa M., Marciano da Costa L., Magalães L., Stringheta E., Biological properties of natural dyes. Ars Pharmaceut. 45 (1): 5-20. 2004.
36. Valero J. J. El cultivo del achiote. Universidad Francisco de Paula Santander, Facultad de Ciencias Agrarias, 2009. Recuperado 23 de noviembre de 2010. <http://tibuyanito.blogspot.com/2009/03/el-cultivo-de-achiote-bixa-orellana-l.html>
37. Vallejo F. Evaluación de germoplasma de achiote *Bixa orellana* L.; estudios básicos sobre asociaciones fenotípicas y biología floral. Universidad Nacional Sede Palmira. p 17. Recuperado 15 de enero 2011. Disponible En: <http://www.revistas.unal.edu.co/index.php/actaagronomica/article/.../16260>
38. Vonthron C, Weniger B, Ouattara M, Bi F, Kamenan A, Lobstein A *et al*. In vitro antiplasmodial activity and cytotoxicity of ethnobotanically selected Ivorian plants. Journal Ethnopharmacol. 87 (2-3): 221-225. 2003.

Anemia hemolítica inmunomediada (AHIM)

Immune-mediated hemolytic anemia (IMHA)

Ruiz Chipó Carol Katherine¹; Benavides Insignares Henry² y
Roque Rodríguez Anita Isabel³

¹MVZ Unillanos, ²MV ULS y ³MV MSc Docente Unillanos

anita.roque@unillanos.edu.co

Recibido 04 de Febrero 2014, Aceptado 25 de Abril 2014

RESUMEN

La anemia hemolítica inmunomediada (AHIM) canina resulta de la destrucción prematura de eritrocitos debido a la fijación de anticuerpos a antígenos propios o extraños ubicados sobre la membrana celular; la anemia aparece por la incapacidad de la médula ósea para compensar la elevada destrucción eritrocitaria. Esta enfermedad afecta con mayor frecuencia a hembras de edad media y de todas las razas. Dentro de las manifestaciones clínicas suele encontrarse anorexia, mucosas pálidas o ictericas, soplo cardiaco, hepatoesplenomegalia, taquipnea, taquicardia y hematuria entre otras. Los hallazgos en el examen físico y pruebas paraclínicas son el reflejo de la hipoxia tisular causada por la anemia; además de alteraciones hemostáticas si hay trombocitopenia concurrente. La AHIM se confirma de dos maneras: 1) la presencia de anemia, autoglutinación y esferocitosis en el extendido hemático, y 2) la prueba de Coombs directa; la cual detecta los anticuerpos sobre las membranas eritrocitarias, confirmando el diagnóstico. Las principales complicaciones son la coagulación intravascular diseminada (CID) y la enfermedad tromboembólica, en particular el tromboembolismo pulmonar (TEP). El tratamiento de la AHIM canina se basa en la administración de corticosteroides con o sin alquilantes, junto a la terapia de sostén necesaria en cada uno de los casos, además se debe controlar o eliminar la enfermedad primaria. En general la mortalidad de los pacientes

caninos con AHIM varía del 20 al 50%, pero puede ser más elevada en los cuadros fulminantes y complicados.

Palabras claves: Anemia hemolítica, caninos, sangre.

ABSTRACT

The immune-mediated hemolytic canine anemia (IMHA) is caused by the early destruction of erythrocytes due to the fixation of antibodies to own or foreign antigens on cell membrane surface; consequently, the anemia appears to be a result of the inability of the bone marrow to compensate the high red cell destruction. This disease affects females of medium age with major frequency and to every breed. The clinic manifestations usually are on physical examination and complementary test showing the hypoxia tissue caused by the anemia; as well as haemostatic alterations if there is concurrent thrombocytopenia. The IMHA can be confirmed by two ways: 1) the presence of anemia, autoagglutination and spherocytosis in the blood smear, and 2) the direct test of Coombs. The latter detects the antibodies on the erythrocyte membranes. The main complications are the disseminated intravascular coagulation (DIC) and thromboembolic disease, in particular the pulmonary thromboembolism (PTE). The treatment of the canine IMHA is based on the administration of corticosteroid with or without alkylating, together with the therapy of support necessary in each one of the cases, and controlling or eliminating the primary disease. In general, the death rate of the canine patients with IMHA change from 20 to 50%, but it can be higher than in fulminating and complicated presentations.

Keywords: Hemolytic anemia, canines, blood.

INTRODUCCIÓN

La anemia se define como la disminución en el número de glóbulos rojos en circulación, la cual se origina debido a: 1) la disminución de la producción de eritrocitos a nivel de la médula ósea, 2) pérdida de sangre entera por hemorragia, o 3) por acortamiento de la vida media del eritrocito por hemólisis, la cual puede

estar mediada o no por el sistema inmune. La anemia hemolítica inmunomediada (AHIM), hace referencia a la destrucción de eritrocitos debido a la fijación de anticuerpos (IgG y/o IgM) a antígenos propios (AHIM idiopática o autoinmune) o extraños (AHIM secundaria) que se encuentran sobre la superficie de la membrana celular, permitiendo la subsiguiente fijación del complemento y la lisis intravascular (reacción citotóxica o de hipersensibilidad tipo II), o cubriendo (opsonización) los eritrocitos (Figura 1) lo que permite su destrucción por parte de los macrófagos en el bazo y el hígado principalmente (hemólisis extravascular). La anemia aparece por la incapacidad del organismo para compensar la elevada destrucción eritrocitaria, dando lugar a manifestaciones clínicas acordes con la hipoxia tisular (Thompson, 1996).

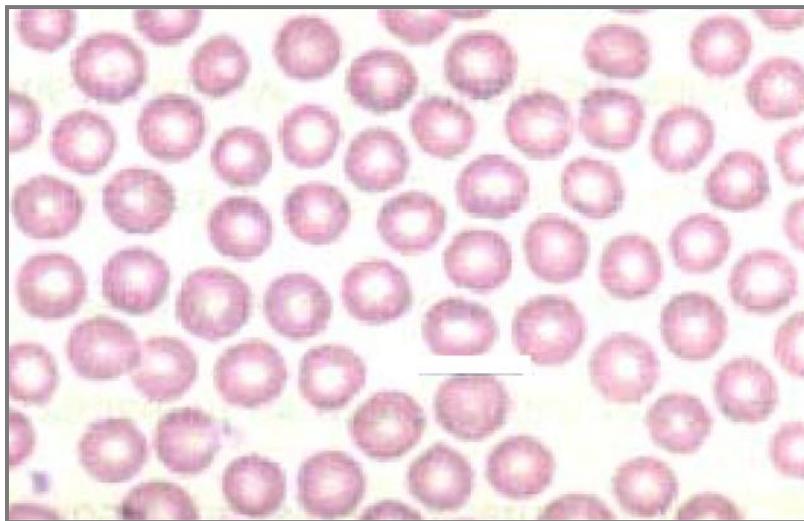


Figura 1. Eritrocito canino. Tinción Wright 100x. **Fuente:** Moreno, 2003

La Anemia hemolítica inmunomediada (AHIM) (Figura 2) es el proceso inmunológico más prevalente en los caninos y constituye aproximadamente el 20% del total de las anemias reportadas en esta especie (Olarde, 2004). La AHIM es el resultado de la destrucción prematura de los glóbulos rojos debido a la fijación de anticuerpos (IgG, IgM y/o complemento) a antígenos propios o extraños ubicados sobre la superficie de su membrana celular, apareciendo la anemia por la incapacidad de la médula ósea para compensar la elevada destrucción.

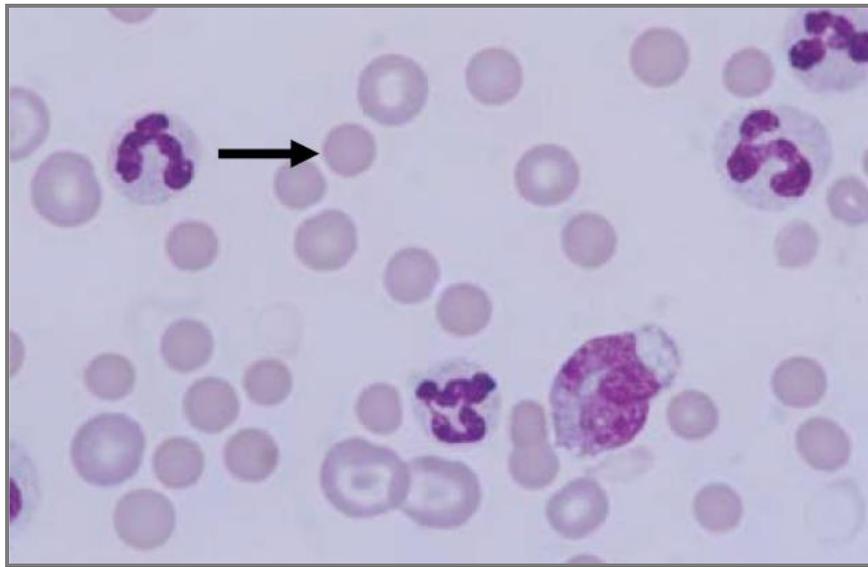


Figura 2. Anemia hemolítica inmunomediada canina, numerosos esferocitos.

Tinción Wrigth 100x. Fuente: Rebar, 2003

CLASIFICACIÓN Y ETIOLOGÍA DE LA AHIM CANINA

La AHIM se puede clasificar de tres maneras: 1) según el lugar donde ocurre la hemólisis como intravascular (enfermedad grave y de carácter agudo) o extravascular (ocurre en el bazo y el hígado principalmente, es de presentación crónica); 2) según su etiología puede ser primaria o idiopática cuando no se puede determinar la causa detallada del padecimiento (65-75% de los casos) o secundaria cuando se presenta por consecuencia de otra enfermedad subyacente; y 3) según el tipo de inmunoglobulina participante, la temperatura y la naturaleza del proceso hemolítico, se puede clasificar en cinco clases que se resumen en la Tabla 1 (Tizard, 2002).

La AHIM primaria denota la pérdida de la autotolerancia o incapacidad del sistema inmune de diferenciar los antígenos propios de los extraños y equivale a un disturbio primario de dicho sistema (Lifton, 2000). También, la AHIM secundaria puede originarse como consecuencia de otras enfermedades: lupus eritematoso sistémico (LES); neoplasias como el linfoma, hemangiosarcoma y leucemia linfocítica; otra manera de adquirir la AHIM es por medicación con cefalosporinas,

penicilinas, tetraciclinas, sulfonamidas y vacunación. Además de la reacción inmune a parásitos como *Babesia*, *Mycoplasma*, *Dirofilaria*, *Ehrlichia* y *Leishmania*, y post transfusión de sangre entera o células (Paz, 2004).

Tabla 1. Clasificación de la AHIM canina según el tipo de anticuerpo participante, la temperatura óptima a la que reaccionan estos anticuerpos (Ac) y la naturaleza del proceso hemolítico.

Clase	Anticuerpo predominante	Actividad	Temperatura óptima (°C)	Sitio de eliminación eritrocitos	Efecto clínico
I	G>M	Aglutinina	37	Bazo	Aglutinación intravascular
II	M	Hemolisina	37	Hígado	Hemólisis intravascular
III	G	Ac. incompleto	37	Bazo	Anemia
IV	M	Aglutinina	4	Hígado	Cianosis de extremidades
V	M	Ac. incompleto	4	Hígado	Anemia

Fuente: Tizard, (2002).

INMUNOPATOGENIA DE LA ANEMIA HEMOLÍTICA INMUNOMEDIADA CANINA (AHIM)

Esta enfermedad se caracteriza por la elevada destrucción de los glóbulos rojos causada por la fijación de las inmunoglobulinas (IgG y/o IgM) y el complemento a la membrana del eritrocito (mecanismo de hipersensibilidad tipo II – citotoxicidad mediada por anticuerpos) (Reimer *et al.*, 2000). Se debe tener en cuenta que la IgM causa menos del 1% de los casos de AHIM (Nelson y Couto, 2000) y, que cuando el complemento se encuentra sólo sobre la membrana celular se produce una enfermedad diferente a la AHIM donde la hemólisis marcada es rara (Lifton, 2000; Paz, 2004).

Se han postulado varios mecanismos mediante los cuales el anticuerpo se puede unir al eritrocito dando origen a la AHIM, estos mecanismos son:

- 1) **Autoinmune:** cuando en la enfermedad primaria un anticuerpo se une a un determinante estructural de membrana. El auto-anticuerpo puede desarrollarse tras una infección por un microbio portador de un epítopo de reacción cruzada, o que induce hiperactividad del sistema inmune o activación de linfocitos autorreactivos (Lifton, 2000).
- 2) **Aloinmune:** aparece de manera espontánea cuando un alo-anticuerpo se une al antígeno de grupo sanguíneo, que generalmente son inducidos por una transfusión de sangre incompatible, o ser traspasados a los recién nacidos a través del calostro (Isoeritrólisis neonatal) (Day, 2000).
- 3) **Espectador inocente:** cuando un anticuerpo se une a un epítopo extraño portado por un agente infeccioso o un fármaco por ejemplo la penicilina que va unida de forma inespecífica a la superficie del eritrocito (Lifton, 2000; Paz, 2004).
- 4) **Automodificado:** sucede cuando un fármaco actúa como un hapteno que se une a una molécula de la superficie del eritrocito creando un nuevo epítopo (Day, 2000).
- 5) **Determinante críptico expuesto:** se presenta con la unión de un fármaco o un microorganismo que provoca la exposición de un determinante que hasta el momento había sido críptico. En este caso el anticuerpo es un auto-anticuerpo, pero la enfermedad es secundaria a la causa desencadenante, adicionalmente, los complejos inmunes (Igs) pueden adsorber de forma inespecífica sobre la superficie del eritrocito que no es mediante un enlace Fab, aunque no necesariamente, median la destrucción celular (Lifton, 2000; Day, 1999).

DESTRUCCIÓN CELULAR EN LA AHIM

La iniciación de la AHIM implica la presentación de un antígeno propio o extraño (reacción cruzada) por las moléculas complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) e interacciones entre linfocitos autorreactivos T y B, lo que da lugar a un

auto-anticuerpo. Estos eritrocitos cubiertos con anticuerpos se unen a receptores Fc sobre los macrófagos y monocitos del sistema fagocítico mononuclear (SFM), con la resultante fagocitosis (Semple y Freedman, 2005), esta hemólisis extravascular ocurre principalmente en el bazo (células cubiertas con IgG) y en menor proporción en el hígado (células cubiertas con IgM y complemento) (Nelson y Couto, 2000; Cerecedo *et al.*, 2004), si el macrófago elimina solo una parte de la membrana celular, el eritrocito pierde su configuración bicóncava usual y forma una célula densa pequeña denominada esferocito (Buch, 1999). Estos esferocitos carecen de flexibilidad y son más susceptibles de ser eliminados por los macrófagos esplénicos o hepáticos, o de destruirse al pasar por los pequeños capilares (Cowell *et al.*, 2003; Herrera y Estrada, 2003).

Por otro lado, y con menor frecuencia, los eritrocitos cubiertos con anticuerpos se eliminan mediante hemólisis intravascular tras la fijación del complemento (Day, 2000). También en ocasiones los auto-anticuerpos se dirigen contra los precursores eritroides de la médula ósea, destruyéndolos en el estadio de metarrubricito o reticulocito (arresto en la maduración eritroide), en este caso se produce una forma grave de AHIM no regenerativa produciendo aplasia de glóbulos rojos pura (PRCA) (Nassiri *et al.*, 2005). Los perros con PRCA pueden no tengan anticuerpos unidos con los eritrocitos circulantes, pero la IgG sérica puede inhibir la eritropoyesis uniéndose a dichos precursores o a la eritropoyetina en la médula ósea, siendo este padecimiento es un tipo de AHIM, del cual existen reportes que indican que la mayoría de los pacientes con PRCA necesitan tratamiento de por vida (Álvarez, 2006).

La formación de células B autorreactivas contribuye a la cronicidad de la respuesta autoinmune, esto incrementa el número de estas células. En el tejido inflamado, citoquinas proinflamatorias y auto-antígenos proveen las señales que favorecen la diferenciación y sobrevivencia de las células plasmáticas, los anticuerpos producidos localmente por estas células contribuyen a la severidad de la inflamación, además, las células plasmáticas proporcionan persistencia de la memoria humoral, estas son de larga vida y son relativamente resistentes a las

terapias existentes de inmunosupresores y continúan secretando anticuerpos sin necesidad de estimulación. Estas células proporcionan títulos de anticuerpos constantes durante la fase clínica y luego de la terapia inmunosupresora, estos títulos persisten, aunque a menudo bajos y no causan signos clínicos agudos, es probable que mantenga un bajo nivel de inflamación crónica y destrucción de tejidos progresiva, con disminución del umbral de ruptura de la tolerancia (Manz *et al.*, 2006).

Características inmunopatológicas de la anemia hemolítica autoinmune

1. En la superficie del eritrocito se pueden identificar auto-anticuerpos para las clases de IgG con cuatro subclases, aunque pueden predominar la IgG1 e IgG4, también se puede presentar IgM (Wilkerson *et al.*, 2000).
2. La mayor parte del auto-anticuerpo está unido al eritrocito siendo la proporción circulante libre muy baja.
3. Se ha demostrado la especificidad de los autoanticuerpos en la AHIM canina tomando anticuerpos de eritrocitos de pacientes y usándolos para inmunoprecipitar autoantígenos de glóbulos rojos caninos, las principales moléculas autoantigénicas incluyen las glicoforinas y los componentes del canal de intercambio aniónico del eritrocito (banda 3) (Barker *et al.*, 2002). En los pacientes con AHIM se identifican autoanticuerpos específicos para la molécula citoesquelética espectrina, así como en los perros normales, por lo que podrían participar en el proceso de eliminación de los glóbulos rojos viejos. La heterogeneidad de la respuesta de los anticuerpos sugiere que la etiología subyacente a la AHIM puede variar de un individuo a otro (Day, 2000).
4. Al comparar la fagocitosis de eritrocitos opsonizados *in vitro* es mayor con monocitos derivados de perros que presentan AHIM que con monocitos de perros normales (Corato *et al.*, 1997).

5. En ocasiones, se encuentran células autorreactivas T (específicas para proteínas de membrana de glóbulos rojos y péptidos de glucoforina) en la sangre de perros clínicamente normales, pero se identifican con frecuencia en la sangre de pacientes con AHIM, o en animales que, aunque están clínicamente sanos tienen susceptibilidad genética a esta enfermedad (Day, 2000; Corato *et al.*, 1997).
6. La magnitud de la hemólisis depende del título de anticuerpos; la afinidad del anticuerpo por el autoantígeno y su capacidad fijar el complemento, la densidad antigénica sobre la membrana y el estado de activación de linfocitos (Lifton, 2000).

ASPECTOS CLÍNICOS DEL PACIENTE CANINO CON AHIM

Reseña. La AHIM afecta con mayor regularidad a las hembras con edades entre los 2 a 8 años y afecta a cualquier raza.

Manifestaciones clínicas y anamnesis. Los caninos con AHIM manifiestan depresión, anorexia, debilidad, letargia, vómito y diarrea. El colapso o síncope es un signo menos común, y unos pocos perros pueden presentar disnea antes de cualquier otro signo (Day y Mackin, 2000).

Examen físico. Los hallazgos incluyen mucosas pálidas o ictericas, fiebre, hepatoesplenomegalia, taquipnea, taquicardia y soplo cardiaco (Paz, 2004). Otras anormalidades incluyen bilirrubinuria o hemoglobinuria. Además, petequias, equimosis, melena y epistaxis si hay trombocitopenia (Olarde, 2004)

ESTUDIOS DIAGNÓSTICOS

Inicialmente se debe determinar el tipo de anemia, si es por disminución de la eritropoyesis, hemorragia o hemólisis (Lifton, 2000). En el extendido hemático se encuentra un hematocrito menor al 20% (Reimer *et al.*, 2000), además la anemia es macrocítica hipocrómica muy regenerativa (Lopez, 2004) con policromasia y

esferocitosis (Moreno, 2003), también se evidencia leucocitosis por neutrofilia con bandemia y monocitosis (Nelson y Couto, 2000).

En el plasma se puede observar hemoglobinemia o bilirrubinemia. La autoaglutinación es prominente en algunos pacientes y se encuentra trombocitopenia en aquellos con síndrome de Evans o coagulación intravascular diseminada (CID). *“La presencia de policromasia con autoaglutinación y esferocitosis en un perro con enfermedad y anemia de comienzo agudo es indicativo de AHIM y considerado como diagnóstico; en tal caso no suele necesitarse la prueba de Coombs directa”* (Lifton, 2000).

También se puede realizar la prueba de aglutinación directa; para esta prueba se colocan 2 gotas de sangre anticoagulada con EDTA sobre una lamina portaobjetos y se mezcla una de las mismas con 1 gota de solución salina como control y se observa en busca de aglutinación (Cowell *et al.* 2003). La aglutinación positiva es altamente sugestiva de AHIM.

Reacción de Coombs directa. Esta prueba detecta los anticuerpos sobre las membranas eritrocitarias, empleando un anticuerpo dirigido contra la IgG, IgM y complemento (C3b) caninos; en perros con AHIM el reactivo de Coombs (Ig canina) se une a las moléculas de IgG, IgM o complemento, ya ligadas a la superficie eritrocitaria, formando puentes y causando aglutinación, dando la prueba de Coombs como positiva (Mills, 1997).

Pruebas complementarias, bioquímica sérica. Las anormalidades más comunes en la bioquímica son el reflejo del daño producido por la hemólisis, la deshidratación y la hipoxia tisular (Miller, 2000). En la Tabla 2 se citan los hallazgos de laboratorio más frecuentes.

COMPLICACIONES

Las complicaciones primarias de la AHIM son la coagulación intravascular diseminada (CID) y la enfermedad tromboembólica, en particular el tromboembolismo pulmonar (TEP) (Lifton, 2000). La coagulación intravascular

diseminada (CID), se refiere a un complejo síndrome en el cual una excesiva coagulación intravascular lleva a una microtrombosis multiorgánica y sangrado paradójico causado por la inactivación o excesivo consumo de plaquetas y factores de la coagulación secundariamente a una fibrinólisis (Couto, 2004). Asimismo, el tromboembolismo pulmonar (TEP) suele ser la complicación más común de la AHIM, esta puede originarse a partir de una coagulación intravascular diseminada (CID) (Álvarez, 2006). Los trombos suelen alojarse en el pulmón, pero se pueden encontrar en múltiples órganos (riñón, hígado, etc) (Lifton, 2000).

Tabla 2. Hallazgos de laboratorio en 17 perros con AHIM

Parámetro	Promedio ± (SD)	Rango
Hematocrito (%)	15,7 ± (6,3)	6 - 35
VCM (fl)	78,4 ± (11,9)	60 - 129
Rto Reticulocitos (x10 ³ /mcl)	173,7 ± (188,6)	0,1 - 102,5
Leucocitos (x10 ³ /mcl)	31,0 ± (21,1)	5,4 - 109,5
Rto Plaquetario	185 ± (170)	1 - 922
Bilirrubina (mg/dl)	7,2 ± (13,2)	0,01 - 636
BUN (mg/dl)	31,5 ± (23,4)	8 - 85
Creatinina (mg/dl)	0,78 ± (0,36)	0,3 - 1,6
Glucosa (mg/dl)	94,5 ± (26,2)	37 - 128
Calcio (mg/dl)	9,0 ± (0,6)	8,1 - 10,4
Fósforo (mg/dl)	5,0 ± (1,6)	3,2 - 9
ALP (UI/L)	792,2 ± (1344,2)	21 - 5570
ALT (UI/L)	132,2 ± (251,8)	20 - 1072
Albúmina (g/dl)	3,03 ± (0,48)	2,3 - 3,8
Globulina (g/dl)	2,99 ± (0,86)	2,1 - 6
TCO ₂ (mEq/L)	14,7 ± (4,1)	7,2 - 21,8

SD: Desviación estándar

VCM: Volumen corpuscular medio

ALP: Fosfatasa alcalina

Fuente: Miller, (2000)

ALT: Alanino aminotransferasa

BUN: Nitrógeno ureico sanguíneo

TCO₂: Dióxido de carbono

TRATAMIENTO MÉDICO

Además de controlar o eliminar la enfermedad primaria el tratamiento de la AHIM canina se basa en la administración de corticosteroides con o sin alquilantes, junto a la terapia de sostén necesaria en cada uno de los casos. En la Tabla 3 se resumen los principales medicamentos para el tratamiento de la AHIM canina.

Tabla 3. Principales medicamentos para el tratamiento de la AHIM canina.

Medicamento	Dosis, Frecuencia y Vía Administración	Observación
Prednisolona	0,2-4 mg/kg/12-24 h, V.O.	Tratamiento de elección, realizar monitoreo de Hematocrito cada 3 días y ajustar dosis
Dexametasona	0,1-0,6 mg/kg I.V. Única dosis	No utilizar en tratamientos prolongados
Azatioprina	50-75 mg/m ² /24 h V.O. por 1 semana, luego cada 48 o 2 mg/kg/día V.O. con reducción hasta 0,5-1 mg/kg/48 h.	Acción retardada (2-4 semanas post administración)
Ciclofosfamida	50 mg/m ² /día V.O. por 4 días a la semana o 200-300 mg/m ² I.V. o V.O. una vez por semana	Tratamiento eficaz en la AHIM canina, actúa de 1 a 3 semanas post administración
Danazol	5-10 mg/kg/12 h V.O.	Actúa de 1 a 2 semanas post administración
Ciclosporina A	7-15 mg/kg/día V.O o I.V.	Uso en perros con AHIM refractaria Vía intravenosa puede generar anafilaxia

TRATAMIENTO QUIRÚRGICO (ESPLENECTOMÍA)

La esplenectomía debe realizarse con cautela ya que el bazo aumentado de tamaño es una fuente importante de hematopoyesis extramedular. La esplenectomía no solo disminuye la eliminación extravascular de eritrocitos, sino que también elimina una importante fuente de producción de anticuerpos (Thompson, 1996).

MONITOREO DEL PACIENTE

Al estabilizar el hematocrito por encima del 25% el paciente puede recibir el alta hospitalaria, este debe ser monitoreado por el propietario, es importante medir el hematocrito, monitorear el hemograma y los reticulocitos antes de reducir la posología de la medicación. Si el paciente muestra efectos colaterales marcados por la corticoterapia la medicación puede ser reducida un poco después de 2 semanas, o se añade otro medicamento (Azatioprina o Danazol). Una vez que la enfermedad entra en remisión la dosis de la prednisolona se puede reducir un 25 a 35% cada 3 o 4 semanas hasta alcanzar la dosis mínima que mantenga la condición bajo control (Lifton, 2000).

PRONÓSTICO

La mortalidad global de los pacientes caninos con AHIM varía del 20 al 50% pero puede ser más elevada hasta 80% (Reimer *et al.*, 2000), como es el caso de perros con complicaciones y enfermedades subyacentes que son de pronóstico reservado.

CONCLUSIONES

La anemia hemolítica inmunomediada canina es un padecimiento que puede variar de signo clínico de una enfermedad "inicial" a una propiamente dicha, por lo tanto, su presentación clínica es muy variada y en ocasiones se pueden evidenciar signos que distraen al médico veterinario del diagnóstico.

El único hallazgo microscópico que indica que el padecimiento de la anemia hemolítica es de tipo inmunomediado, es la presencia de esferocitosis y aglutinación en el extendido hemático, o la comprobación de la existencia de anticuerpos sobre las membranas eritrocitarias caninas por medio de la reacción de Coombs directa.

Se considera como diagnóstico la AHIM la presencia de policromasia con autoaglutinación y esferocitosis en un perro con enfermedad y anemia de

comienzo agudo. Se ha reportado con mayor frecuencia en hembras y en algunas razas en específico, lo que denota una susceptibilidad de tipo genético y la influencia hormonal sobre el sistema inmune.

Existen medicamentos efectivos para el control y tratamiento de la AHIM en perros; sin embargo, deben ser suministrados con precaución debido a sus graves efectos colaterales.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Álvarez F. Seminario de Medicina Interna Oncológica. Diagnóstico y manejo del paciente con anemia y trombocitopenia inmunomediada. Bogotá: Agosto-Septiembre, p. 12-16. 2006.
2. Barker R. N., Shen C. R., Elson C. J. T cell specificity in murine haemolytic anemia induced by rat red blood cells. *Clin Exp Immunol.*, 129 (2): 208-213. 2002.
3. Buch B. Interpretación de los Análisis de Laboratorio para Clínicos de Pequeños Animales. Madrid, España: Ediciones Harcourt S.A., p 39-91. 1999.
4. Cerecedo M. A.; Rivera L.; Lara O. Anemia hemolítica inmunomediada en un perro. Memorias Cuarta Jornada De Patología Clínica Veterinaria UNAM. México, p 1-4. 2004.
5. Couto C. G. Diagnóstico y Tratamiento de Anemias I y II, Seminario de Oncología, VEPA. Cali. p 2-3. Octubre 1997.
6. Couto C. G. Coagulación intravascular diseminada en perros y gatos. Memorias IX Congreso de Médicos Veterinarios en Pequeñas Especies del Bajío. Ciudad de México, p 1-15. 2004.
7. Corato A., Shen C. R., Mazza G., Barker R. N., Day M. J. Proliferative responses of peripheral blood mononuclear cells from normal dogs and dogs with autoimmune haemolytic anemia to red blood cell antigens. *Vet Immunol Immunopathol.*, 59 (3-4): 191-204. 1997.
8. Cowell R. L.; Tyler R. D.; Meinkoth J. H. Citología y hematología diagnóstica en el perro y el gato. Segunda edición. Barcelona, España: Multimédica, p 263-301. 2003.
9. Day M. J. Atlas en color de enfermedades inmunomediadas del perro y el gato: Cuadros clínicos, diagnóstico y tratamiento. Madrid, España: Ediciones Grass, p 9-87. 1999.
10. Day M. J.; Mackin A. Manual of Canine and Feline Haematology and Transfusion. *En: Brit Small and Vet Assoc.* p 135-155. 2000.
11. Herrera M.; Estrada M. Esferocitosis hereditaria: aspectos clínicos, Bioquímicos y Moleculares. *Revista Cubana de Hematología, Inmunología y Hemoterapia*, 18 (1): 7-24. 2003.
12. Illanes J., Ríos A. Anemia hemolítica en un perro. Caso clínico, *Hospitales Veterinarios*, 5 (3): 71-79. 2013.

13. Lifton J. S. Manejo de la anemia hemolítica inmunomediada canina. *Selecciones Veterinarias*. 8 (1): 81-84. 2000.
14. López C. A. Insuficiencia renal aguda, colangiohepatitis, anemia hemolítica inmunomediada y pancreatitis en un perro. *Memorias Cuarta Jornada de Patología Clínica Veterinaria UNAM*. México. p 1-5. 2004.
15. Manz R. A., Moser K., Burmester G. R., Radbruch A., Hiepe F. Immunological memory stabilizing autoreactivity. *Curr Top Microbiol Immunol.*, (305): 241-257. 2006.
16. Miller E. CVT Update: Diagnosis and Treatment of immune-mediated hemolytic anemia. *Kirk's Current Veterinary Therapy XIII, J Small Anim Pract*. Collins, Colorado: WB Saunders Company, p 427-434. 2000.
17. Mills J. M. Compensated immune mediated haemolytic anaemia in a dog. *Aust Vet J.*, 75 (1): 24-26. 1997.
18. Moreno C. F. Determinación de parámetros hematológicos normales en una población de caninos y felinos de una clínica veterinaria al norte de la ciudad de Bogotá. Trabajo de Grado Bacteriología, Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá. p 32. 2003.
19. Nassiri M. S.; Shirani D.; Khazrainia K.; Hajmohammadali A.; Sharifi H.; The investigation of the prevalence of immune-mediated hemolytic anemia (IMHA) in anemic dogs referred to the Veterinary Teaching Hospital of the University of Tehran. *Comparative Clinical Pathology*, 14 (3): 121-124. 2005.
20. Nelson W. R. and Couto C.G. *Medicina Interna de Pequeños Animales*; Buenos Aires, República de Argentina: Intermedica, p 1244-1247, 1304, 1310-1312. 2000.
21. Olarte W. Seminario Nacional, Hematología en pequeños animales. Anemia Hemolítica Inmunomediada. Bogotá, p 2-35. Julio 2004.
22. Paz A. Anemia hemolítica inmunomediada en perros. *Memorias Cuarta Jornada de Patología Clínica Veterinaria UNAM*. México, p 1-9. 2004.
23. Rebar A. H. Interpretación del hemograma canino y felino. Eritrocitos en periodo de salud y enfermedad. Wilmington, Delaware: The Gloyd Group. Inc., p 21-30. 2003.
24. Reimer M., Troy G., Warnick L. Anemia hemolítica inmunomediada, *Selecciones Veterinarias*, 8 (5): 524-526. 2000.
25. Semple J. W.; Freedman J. Autoimmune pathogenesis and autoimmune hemolytic anemia. *Semin Hematol.*, 42 (3): 122-130. 2005.
26. Thompson J. P. *Manual Clínico de Pequeñas Especies* Birchard S. J., Sherding R. G. *Enfermedades Sistémicas Inmunomediadas, Anemia Hemolítica Inmunomediada*. Vol. 1. Interamericana McGraw-Hill, p 204-207. 1996.
27. Tizard I. R. *Inmunología veterinaria*. Sexta edición. México: McGraw-Hill Interamericana, p. 10-18, 22-26, 50-114, 150-160, 174-194, 351-359, 392-399, 411-413. 2002.
28. Wilkerson M. J., Davis E., Shuman W., Harkin K., Cox J., Rush B. Isotype-specific antibodies in horses and dogs with immune-mediated hemolytic anemia. *J Vet Med.*, 14 (2): 190-196. 2000.

Evaluación de algunos parámetros productivos al destete en lechones lactantes con diferentes dietas

Evaluation of some production parameters in piglets at weaning with different diets

González Moreno Angélica¹; Carvajal González Carlos Alexis¹ y
Hurtado Nery Víctor Libardo²

¹MVZ. Unillanos y ²MVZ. MSc. Docente Unillanos

vhurtado@unillanos.edu.co

Recibido 22 de Enero 2014, Aceptado 25 de Abril 2014

RESUMEN

Este trabajo se llevó a cabo en la granja San Nicolas, perteneciente al municipio de Cumaral, Meta Colombia. Se utilizaron 18 cerdas de cría, con sus respectivas camadas, las cuales se distribuyeron en tres tratamientos: el primer grupo de lechones se alimentó solo de la leche de la cerda (G1), el segundo con lo mismo adicionando concentrado comercial (G2) y el tercer grupo, igual pero agregando una dieta formulada (G3). El diseño estadístico fue bloques completamente al azar, tres tratamientos, dos bloques por seis repeticiones. Los lechones se pesaron al nacimiento, continuando este pesaje diariamente, desde el quinto día de edad hasta el destete a los 21 días. No se encontraron diferencias significativas ($P>0.01$), en cuanto a la ganancia de peso, consumo de alimento, conversión alimenticia ni para el peso al destete ($P>0.05$). Los resultados sugieren que a pesar de que en la lactancia no se encuentran diferencias significativas ($P>0.05$) entre los parámetros productivos estudiados, la alimentación durante las primeras fases de vida de los lechones puede determinar el rendimiento posterior de los mismos. El consumo de concentrado preiniciador durante la fase de lactancia ayudó a mantener el peso de los lechones cuando estos presentaron diarreas.

Palabras clave: Lechones, lactancia, destete.

ABSTRACT

This work was carried out on the farm San Nicolas belonging town Cumaral, Meta, Colombia. 18 sows with their litters were used, which were divided into three treatments: the first group of piglets fed milk only (G1), the second with the same adding commercial concentrate (G2) and third, like adding a formulated diet (G3). The statistical design was a randomized complete block three treatments, two blocks of six repetitions. Piglets were weighed at birth, continuing weighing daily from the fifth day of age until weaning at 21 days. No significant differences ($P>0.01$) were found in terms of weight gain, feed intake, feed conversion or for weaning weight ($P>0.05$). The results suggest that although breastfeeding no significant differences ($P>0.05$) between production parameters studied, the power is found during the early stages of life of the piglets can determine the subsequent performance of the same. Preinitiation food consumption during the breastfeeding helped keep the weight of piglets when they had diarrhea.

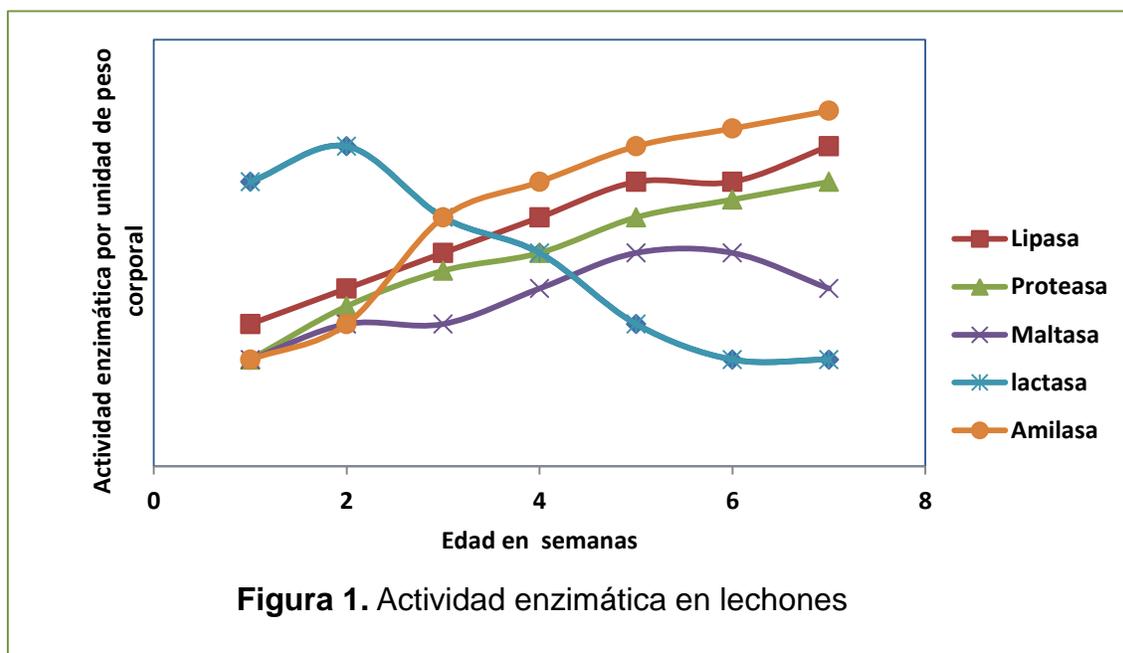
Keywords: Suckling pig, breastfeeding, weaning.

INTRODUCCIÓN

La producción porcina en Colombia ha tenido grandes cambios, la incorporación de tecnología de última generación parece ser hoy una constante y una exigencia por parte del sector porcicultor. Sin la “intervención del hombre”, el destete de lechones se produciría de forma gradual contando con unas doce semanas de vida. Sin embargo, en las condiciones productivas actuales, las crías son apartados de su madre de forma brusca, aproximadamente a las cuatro semanas de vida, contando apenas con tiempo para adaptarse, tanto física como fisiológicamente, al nuevo medio y a la nueva dieta (Gómez *et al*, 2008). Dentro de esta concepción, el factor que cobra cada vez más importancia es la nutrición y alimentación en las etapas tempranas de los lechones, puesto que el período de la cría y el posterior al destete, es sin duda lo que define el éxito o el fracaso de la producción, constituyendo estos dos factores un 60% del costo total de la cría (FAO, 2012).

Durante los primeros sesenta días de vida, los lechones cada semana cambian sus características fisiológicas digestivas, determinando con esto la adaptación de los alimentos a cada una de esas variaciones, las cuales se deben a un proceso de maduración y desarrollo de complejos enzimáticos, que hace al lechón capaz de digerir y asimilar los nutrientes ofrecidos en reemplazo de la leche materna. El objetivo principal es lograr un paso suave y rápido de una dieta líquida láctea a una dieta sólida basada en cereales y proteínas de origen animal y vegetal (Campabadal y Navarro, 2002).

Según Spreeuwenberg, (2002) la estimulación del desarrollo del complejo enzimático del lechón por medio de técnicas de alimentación muy tempranas, durante los primeros días de vida, contribuye a aumentar el peso al momento del destete (Figura 1).



En la lactación, el lechón mama aproximadamente una vez por hora consumiendo pequeñas cantidades cada vez. Al llegar el momento en el que la dieta líquida se transforma en alimento seco, los lechones dejan de comer y, pasados algunos días, tienden a comer menos veces pero mayores cantidades. Esto afecta la digestión del alimento y provoca que gran cantidad del mismo pase sin digerir al

intestino grueso, fermentándose y causando problemas de diarrea (Gutiérrez, 2002).

La leche de la cerda cubre todos los requisitos nutricionales del lechón, es rica en grasa y muy digestible por su contenido en ácidos grasos de cadena corta, lactosa y proteína bien balanceada, la leche de la cerda tiene en promedio un 20% de materia seca (Federación Ganadera de Córdoba, 2003), la cual será convertida en ganancia de peso de lechón vivo con una eficiencia de 1 a 1 o aún mejor. Si la producción diaria de la cerda es mayor a 10 litros de leche por día, la tasa de crecimiento de la camada y de cada lechón será aún mayor.

REQUERIMIENTOS NUTRICIONALES

Energía. El NRC, (2008) consigna una ingesta diaria promedio de 3.265 Kcal/kg de energía metabolizable (EM) para cerdos de 3 a 5 kg de peso, y 3.400 Kcal/Kg de energía digestible (ED). En la alimentación del cerdo neonatal, deben utilizarse dietas de alta densidad energética, con preferente inclusión de grasas de alta calidad, teniendo en consideración que el aporte del resto de nutrientes debe guardar relación con el nivel de energía.

Aminoácidos. El cerdo tiene necesidad de 10 aminoácidos indispensables, pero sólo cuatro suelen ser limitantes en las dietas corrientes, siendo la lisina el primer limitante, luego le siguen la treonina, metionina y triptofano. El NRC, (2008) indica un requerimiento de lisina de 4.63 y 4.13 g/MCal de EM, para cerdos de 3 a 5 Kg de peso o 1.34% en base a la digestibilidad real del íleon. De acuerdo al concepto de "Proteína ideal" se ha sugerido una proporción de 100, 65, 60 y 18% para lisina, treonina, aminoácidos azufrados y triptófano, respectivamente, para cerdos hasta 10 kg de peso (Rostagno *et al.*, 2011). El nivel de proteína no debe estar por debajo del 22%.

Ácidos grasos, vitaminas y minerales. El NRC, (2008) lista las necesidades de 13 vitaminas y 13 minerales, sin embargo las necesidades de algunos de estos nutrientes son satisfechas por el aporte de los componentes mayores de la dieta,

no requiriéndose la suplementación de todos ellos. Las necesidades son: Vitamina A 550 IU, Vitamina D₃ 55 IU, Vitamina E₄ IU, Vitamina K 0.13 mg, Biotina 0.02 mg, Colina 0.15 g, Folacina 0.08 mg, Niacina 5.00 mg, Acido pantótenico 3.00 mg, Riboflavina 1.00 mg, Tiamina 0.38 mg, Vitamina B₆ 0.50 mg, Vitamina B₁₂ 5.00 mg, Acido Linoleico 0.25 g

Minerales. Calcio 2.25 g, Fósforo total 1.75 g, Fósforo disponible 1.38 g, Sodio 0.63 g, Cloro 0.63 g, Magnesio 0.10 g, Potasio 0.75 g, Cobre 1.50 mg, Yodo 0.04 mg, Hierro 25.00 mg, Manganesio 1.00 mg, Selenio 0.08 mg, Zinc 25.00 mg (NRC, 2008).

Las dietas de preiniciación deben ser palatables, con olor y sabor parecidos a la leche materna, ricas en energía y proteína de buena calidad, pobres en fibra y humedad. Es conveniente, aunque no indispensable, el uso de alimento peletizado o granulado hasta el destete; si se suministran en forma de harina todos los ingredientes deben quedar finamente molidos (Capdevila, 1994). Perkins y Mahan, (2003) sugieren que no hay un efecto beneficioso evidente al suministrar preiniciador a los cerdos de menos de 21 días de edad, particularmente cuando las cerdas son sanas y su producción láctea es normal.

FACTORES QUE INFLUYEN EL CONSUMO DE ALIMENTO

Existen algunos factores que influyen en el buen desempeño de los preiniciadores y por lo tanto de sus camadas. Según el NRC, (2008) estos factores se pueden clasificar en los siguientes grupos:

1. **Factores fisiológicos:** Genética y sexo, mecanismos nerviosos y hormonales y, factores sensoriales como el gusto y el olfato.
2. **Factores medioambientales:** Temperatura medioambiental, humedad, aireación, diseño y ubicación de comederos y, número de lechones.
3. **Factores nutricionales:** Suministro y consumo de leche de la cerda; formulación de la dieta, forma de la dieta, manejo, antibióticos, sabores,

procesamiento del alimento, disponibilidad y cantidad de agua y, también influye la edad del lechón y el peso al nacimiento.

MATERIALES Y MÉTODOS

Esta investigación se llevó a cabo en la Granja San Nicolás, ubicada en la Vereda San Nicolás perteneciente al Municipio de Cumaral, en el Departamento del Meta, Colombia, ubicado a 4°16" latitud norte y 73°34'25" longitud oeste según meridiano de Greenwich, con una altura de 570 msnm, temperatura anual media de 25°C, la precipitación media anual varía entre los 2.200 y 5.100 mm, humedad relativa de 65% en período seco y 85% en periodo húmedo.

Se seleccionaron 18 madres con sus respectivas camadas, con un promedio de 9.5 lechones por camada, en total para todo el ensayo se utilizaron 171 lechones al iniciar los tratamientos (Figura 2).



Figura 2. Camada de la granja San Nicolás

Las jaulas parideras estaban dotadas de bebederos y comederos para los lechones, a cada una de las hembras se le llevó el correspondiente registro, en donde se encontraba toda la información de su vida productiva. El primer grupo de camadas se alimentaron únicamente de la leche de la cerda hasta el destete, a los

21 días de edad (G1). Al segundo grupo, además de la leche se les suministro concentrado comercial a partir del quinto día de edad (G2) hasta el destete (21 días) y, al tercer grupo adicional a la leche se les suplementó con una dieta formulada a base de maíz y soya a partir del quinto día de edad hasta el destete (21 días).

Las 18 madres se dividieron en dos bloques teniendo en cuenta el número de partos. En el Bloque 1, se encontraron las hembras de dos partos o menos y en el Bloque 2, se encontraron las hembras de más de dos partos, cada bloque estaba conformado por 9 hembras y sus camadas, a su vez las 9 camadas se dividieron en tres grupos de tres camadas, las cuales se sometieron a los siguientes tratamientos: G1 = Amamantamiento natural, solo consumo de leche de la cerda, G2 = Concentrado comercial y, G3 = Dieta formulada.

Se hizo el pesaje de las camadas al nacimiento y luego a los cinco días de edad, a cuando se les comenzó a suministrar las respectivas dietas con concentrado comercial y dieta formulada, todos los grupos fueron pesados todos los días a partir del inicio de los tratamientos hasta que las camadas cumplieron los 21 días de edad.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El diseño experimental que se aplicó fue bloques al azar con tres tratamientos, dos bloques y seis repeticiones por tratamiento, cada camada es una repetición. Los bloques fueron conformados al azar. El modelo estadístico que se utilizó fue el siguiente: $Y_{ij} = \mu + T_i + B_j + E_{ij}$. Los datos fueron sometidos a ANAVA, y las variables que se manejaron fueron las siguientes: ganancia de peso, conversión alimenticia, consumo de alimento y/o leche, porcentaje de mortalidad, presencia o no de diarreas y, peso al destete.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Ganancia de peso. El promedio de ganancia diaria de peso por lechón para las camadas con amamantamiento natural fue de 199.3 gr/día, en el grupo alimentado

con concentrado comercial fue 221.12 g/día y para el alimentado con dieta formulada fue 216.51 g/día. El tipo de alimentación no influyó esta variable ($P>0.05$). Se observaron ganancias superiores ($P>0.05$) en las camadas alimentadas con concentrado comercial y con dieta formulada en comparación a las alimentadas únicamente con leche.

Los resultados obtenidos de las camadas alimentadas con concentrado comercial y con dieta formulada difieren de lo encontrado por Kavanagh *et al.*, (1998) quienes alimentaron lechones con preiniciador desde los 11 días de edad hasta el destete, y obtuvieron una ganancia de peso diaria por lechón de 253 g, mientras que, con el resultado de las camadas que no recibieron preiniciador durante la lactancia, es coincidente con los pesos reportados por Kavanagh *et al.*, (1998) en donde el promedio de ganancia diaria de peso en camadas a las que no se les suministró preiniciador durante la lactancia fue 194 g/lechón/día, resultados que difieren de lo encontrado por Daza *et al.*, (1999) quienes hallaron una ganancia diaria promedio por lechón de 235 g para lechones de 19 a 25 días de edad, alimentados solo con la leche de la cerda (Figura 3).

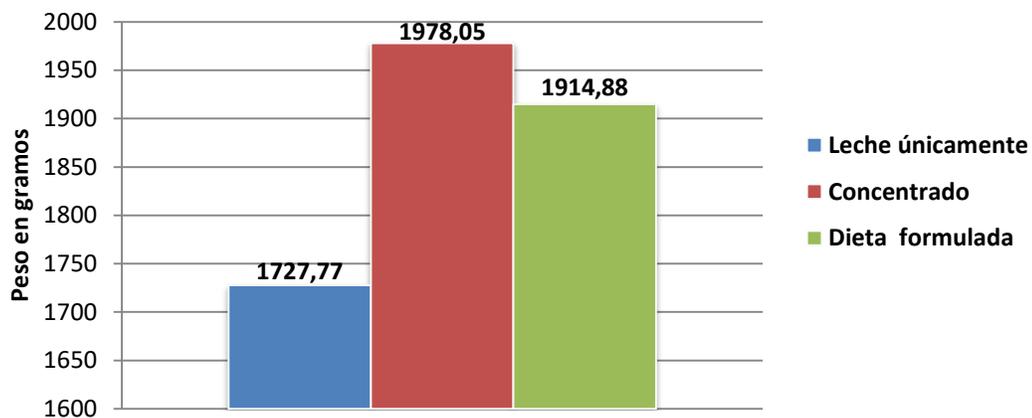


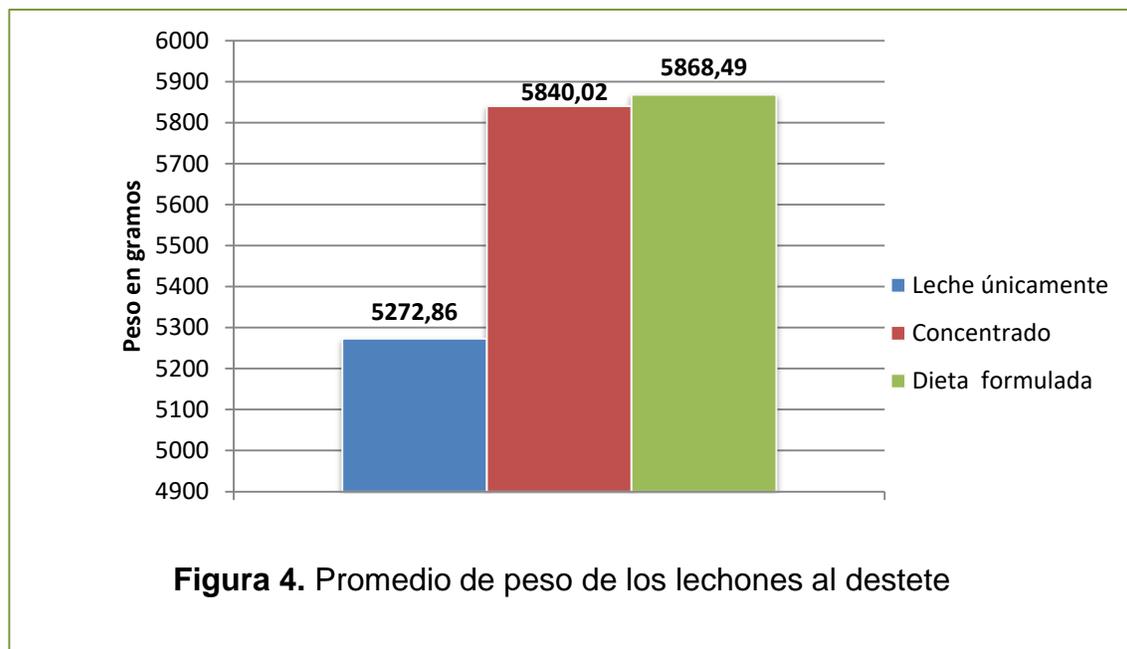
Figura 3. Promedio de ganancia de peso total por lechón

Durante el estudio se observó que los lechones alimentados con concentrado comercial y los lechones alimentados con una dieta formulada, aún en presencia de diarrea obtuvieron una ganancia de peso aceptable, mientras que los lechones con amamantamiento natural en algunos casos perdieron peso, esto conlleva a pensar que el suministro de preiniciador ayuda a mantener el peso de los lechones cuando padecen diarrea.

Peso al destete. El promedio de peso al destete por camada fue de 5.27 kg para los lechones alimentados únicamente con leche, 5.84 kg para las camadas alimentadas con concentrado comercial y con dieta formulada fue 5.86 kg. Estos resultados difieren de los datos reportados Roppa, (2002) obteniendo un promedio de peso al destete con 20 días de edad de 6.67 kg sin suministrar ración, y para camadas alimentadas pre-destete 7.44 kg. Los promedios obtenidos en este estudio fueron inferiores a los parámetros ideales de producción de una granja comercial, probablemente debido al hecho de que las camadas tuvieron mayor presentación de diarrea, lo cual no les permitió tener un buen rendimiento durante la fase de lactancia.

Los promedios de peso al destete fueron similares para los tres tratamientos ($P>0.05$). El promedio de lechones destetos por camada fue de 9.3 para los lechones alimentados con leche únicamente, 9 y 9.1 para las camadas alimentadas con concentrado comercial y con dieta formulada respectivamente (Figura 4).

Consumo de alimento. El promedio de consumo de alimento por camada para los lechones alimentados con concentrado comercial y con dieta formulada fue 1.722,29 g/día/camada y 1.596,92 g/día/camada, respectivamente. El consumo de alimento fue similar ($P>0.05$) entre los tratamientos. Estos resultados difieren de lo encontrado por Kavanagh *et al.*, (1998), quienes encontraron consumos de 2.533 g/camada/día de alimento fresco suministrado desde los 11 días de edad hasta el destete.



Se observó un mayor consumo de materia seca en las camadas alimentadas con concentrado comercial, debido tal vez a que el concentrado comercial tiene una presentación en pellets, lo que evita el desperdicio del mismo, Lizaso, (1995) menciona que el alimento en harina, puede resultar “pastoso y pegajoso” en la boca del animal, y constata una reducción del 13% en el consumo.

Conversión alimenticia. La conversión de los lechones alimentados con leche únicamente fue de 0.74, para los suplementados con concentrado comercial y con una dieta formulada, fue respectivamente 0.95 y 0.93, valores calculados teniendo en cuenta el consumo de alimento y el consumo de leche, no se encontró diferencia ($P>0.05$) en la conversión alimenticia entre las camadas alimentadas con concentrado comercial y con una dieta formulada.

Según Roppa, (2001) la conversión alimenticia para lechones que no se les suministra preiniciador en lactancia es de 0.77, lo cual es similar a lo encontrado en este estudio y para los lechones a los cuales se les suministra alimento en la fase de lactancia es de 0.64, lo cual es inferior a lo encontrado en esta investigación. Esto puede ser debido a que la capacidad enzimática de los lechones no es la óptima, ya que durante la lactancia, el sistema enzimático del

lechón está adaptado para digerir los nutrientes de la leche, y la absorción de proteínas lácteas, lactosa y lípidos de cadena corta y todo esto se refleja en un menor crecimiento, en una menor ganancia de peso y en la presentación de diarrea (Medel *et al.*, 2002).

Mortalidad. La mortalidad fue mayor en las camadas con amamantamiento natural y en las alimentadas con una dieta formulada, tratamientos que presentaron mayor influencia de diarreas (Tabla 1).

Tabla 1. Mortalidad en los lechones experimentales

Grupo	No. Inicial lechones	No. Final lechones	Mortalidad	% Mortalidad
Amamantamiento natural	59	56	3	5.08%
Concentrado comercial	56	54	2	3.57%
Dieta formulada	58	55	3	5.17%

CONCLUSIONES

El amamantamiento natural, el suministro de concentrado comercial y la dieta formulada y preparada en la misma granja presentaron resultados similares ($P>0.05$) de consumo de ración, ganancia diaria de peso y conversión alimenticia. El consumo de preiniciador durante la fase de lactancia ayudó a mantener el peso de lechones cuando estos presentaron diarreas.

Se observó mayor presencia de diarreas en las camadas alimentadas con una dieta formulada y con leche únicamente, reflejándose sobre la tasa de mortalidad de dichas camadas que fue de 5.17% y 5.08% respectivamente.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Campabadal C., Navarro G. H. Alimentación del lechón al destete. Centro de Investigaciones en Nutrición Animal. México, p 2-5. 2002.
2. Capdevila J. Programas de alimentación de lechones. En: X Curso de especialización FEDNA. Madrid, p 2-15. 1994.

3. Daza A., González M., Riopérez J. Producción de leche en cerdas viejas e índices técnicos de los lechones durante la lactación. Archivos de Zootecnia, 48 (182): 227-230. 1999.
4. FAO. Buenas prácticas pecuarias para la producción y comercialización porcina familiar. Brunori J., Rodríguez M. y Figueroa E (Ed). Buenos Aires, Argentina 275 p. 2012.
5. Gómez A., Vergara D., Argote F. Efecto de la dieta y edad del destete sobre la fisiología digestiva del lechón. Universidad del Cauca, Revista Facultad de Ciencias Agropecuarias, 6 (1): 32-41. 2008.
6. Gutiérrez del Álamo A. Nutrición del lechón destetado. En: IV Jornadas Técnicas de Porcino NANTA. Madrid. p 7-22. 2002.
7. Kavanagh S.; Lawlor P; Young T.; Harrington D.; Caffrey P. J.; Henry W. D. Effect of pre-and post-weaning nutrition and management on performance of weaned pigs to circa 35 kg. Production Department, Moorepark Research Centre, Fermoy, Co. Cork, 1998.
8. Lizaso J. Formulación de piensos para lechones en España: II. Factores que influyen en el consumo de pienso. En: XI CURSO DE ESPECIALIZACION FEDNA. Barcelona. p 11-15. 1995.
9. Medel P., Latorre, A. y Mateos G. G. Nutrición y Alimentación de Lechones Destetados Precozmente. En: XV Curso de Especialización Avances en Nutrición y Alimentación Animal. Madrid, España. p 3-5. 2002.
10. National Research Council (NRC). Nutrient Requirements of Swine. Tenth Revised Edition, National Academic Press. Washington DC. p 28-132. 2008.
11. Federación Ganadera de Córdoba, Colombia. Nuevos retos en las estrategias de manejo de lechones, 2003. Recuperado 25 de agosto de 2010. Disponible En: http://ganacor.tripod.com/agenda10_porcicola.html
12. Perkins J. D.; Mahan D. C. Effects of creep feeding and various postweaning strategies on pig performances during the suckling and postweaning periods. Animal Sciences Research and Reviews, Special Circular 156. 2003.
13. Roppa L. La nutrición y la alimentación de las hembras reproductoras en gestación. Recuperado 3 de abril de 2010. Disponible En: http://www.engormix.com/s_articles_view.asp?AREA=POR&art=484
14. Rostagno H. S., Albino L. F. T., Donzele J. L., Gomes P. C. de Oliveira R. F., Lopes D. C., Soares F. A., Toledo S. L., Euclides R. F. Tabelas Brasileiras para aves e suínos. composição de alimentos e exigências nutricionais. 3ª ed. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa. 252 p. 2011.
15. Spreeuwenberg M. A. M. Nutrición y salud del lechón destetado. En: IV Jornadas Técnicas de Porcino NANTA. Madrid. p 1-6. 2002.

Alternativas tecnológicas para recuperar la cobertura vegetal en la zona de Rubiales en Puerto Gaitán-Meta

Technology alternatives to recover the vegetation coverage in the Rubiales, Puerto Gaitán-Meta

Beltrán Guarnizo Laura¹ y Pérez López Otoniel²

¹I. A. Universidad de los Llanos y ²I. A. Investigador Profesional Asociado, CORPOICA

operez@corpoica.org.co

Recibido 12 de Diciembre 2013, Aceptado 11 de Abril 2014

RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue validar y aplicar metodologías de evaluación y desarrollo de tecnologías para la restauración de suelos intervenidos por la empresa petrolera “Rubiales” a través del ajuste de modelos o arreglos que involucran prácticas y sistemas de labranza conservacionista y la utilización de especies herbáceas, arbustivas y arbóreas, para lo cual se seleccionaron materiales vegetales con rápido potencial de crecimiento y persistencia, para contribuir a la recuperación de la cobertura vegetal permanente. También se definieron prácticas de manejo agronómico y sistemas de labranza conservacionista para intervención de procesos con el fin de volver a cubrir con vegetación a zonas de Puerto Gaitán, ubicada en la altillanura plana colombiana, haciendo de manera simultánea transferencia de tecnología a usuarios y productores. La incorporación parcial de insumos y de fuentes de fosforo como el calfos en el proceso de ajuste de las prácticas de establecimiento, dieron buenos resultados en las áreas que fueron nuevamente cubiertas por vegetación, mejorando el suministro o disponibilidad de nutrientes para las plantas en diferentes fases de desarrollo. Los materiales forrajeros seleccionados: *B. decumbens*, *B. dictyoneura* y *B. humidicola*, demostraron adaptación a las condiciones edafoclimáticas de la zona. La fertilización temprana de los lotes con

fuentes solubles puede ayudar a contrarrestar efectos negativos como la escorrentía sobre las plántulas, pues si se logra un desarrollo más rápido y vigoroso de estas, se mejora el anclaje y se incrementa la población de plantas por unidad de área; teniendo en cuenta el momento de la fertilización, la cual debe realizarse entre los 30 a 45 días después de la siembra. Sin embargo, esta labor está determinada por las condiciones de humedad del suelo asociadas a la precipitación en las áreas que nuevamente fueron cubiertas por vegetación. Con las prácticas utilizadas y con el uso de estas tres especies se logró la oportuna entrega de varios lotes a los 120 días con criterio del 70% mínimo de cobertura, demostrando adaptación a las condiciones edafoclimáticas de la zona.

Palabras clave: Recuperación de suelos, vegetación, gramíneas.

ABSTRACT

The objective of this study was to validate and apply methodologies for evaluation and development of technologies for the restoration of soils affected by the oil company "Rubiales" through fitting models or arrangements involving practices and conservation tillage systems and the use of species herbaceous, shrub and tree, which plant materials were selected, with rapid growth potential and continuing to contribute to the recovery of permanent vegetative cover. Agronomic management practices and conservation tillage systems for intervention revegetation processes in order to return to areas covered with vegetation of Puerto Gaitan, located on colombian altillanura simultaneously making technology transfer to users and producers of this area is also defined. The partial incorporation of inputs and sources of phosphorus as calfos in the process of setting practices of establishment, were successful in areas that were again covered by vegetation, improving the supply or availability of nutrients to plants at different stages development. Selected forage materials were: *B. decumbens*, *B. dictyoneura* and *B. humidicola*, demonstrated adaptation to soil and climatic conditions of the area. Early fertilization lots with soluble sources, can help counteract negative effects on runoff seedlings, because if a quick and vigorous development of these

accomplished, the anchor and higher plant population per unit area is increases; considering the moment of fertilization, which should be conducted between 30 to 45 days after planting. However, this work is determined by the moisture conditions associated with precipitation in areas that were again covered by ground vegetation. With the practices used and the use of these three species timely delivery of various lots within 120 days with 70% criterion of minimum coverage was achieved, demonstrating adaptation to soil and climatic conditions of the area.

Keywords: Recovery of soils, vegetation, grasses

INTRODUCCIÓN

El municipio de Puerto Gaitán pertenece a la región de la altillanura Colombiana, localizado aproximadamente entre 3°05` y 4°08` latitud norte y a 71°05` y 72°30` longitud oeste y está ubicado a 207 kilómetros de la ciudad de Villavicencio, al oriente del departamento (Pulido *et al.*, 2006). Se constituye en el municipio de mayor extensión territorial del Meta, donde se encuentran 1300 hectáreas en las que se observa procesos de degradación ambiental y paisajística, debido a la intervención del campo petrolero “Rubiales” y su área de influencia. Es de anotar, que en esta zona los suelos presentan restricciones físicas, químicas y biológicas, que por estar ubicados en condiciones orográficas onduladas, los hace altamente susceptibles a la erosión, lo cual se ha venido intensificando por las actividades petroleras. Con la situación planteada se justifica la búsqueda de opciones tecnológicas para mejorar la calidad y el manejo del suelo y de coberturas vegetales tendientes a la recuperación del entorno evitando los riesgos de erosión y el impacto sobre el medio ambiente.

La remoción de la cobertura vegetal y el suelo para la extracción de arrecife, un material petroférico técnicamente denominado plintita y utilizado en las obras de ingeniería civil para la construcción y adecuación de carreteras, campamentos e infraestructura de almacenamiento y distribución de hidrocarburos, ha generado procesos de degradación ambiental y paisajística en las zona, que requieren la formulación y evaluación de alternativas de manejo que permitan la recuperación

de la cobertura vegetal, atenuando de esta manera los efectos ambientales de la actividad petrolera, además se pueden convertir en alternativas productivas para la región. Las áreas intervenidas y los taludes generados en estas obras presentan escasas coberturas vegetales y el establecimiento de la vegetación, tanto de forma natural como a en las restauraciones es muy lento. La propuesta se enmarca en las políticas de responsabilidad social de las empresas que están al frente de la producción de crudo, y que por orden legal están obligados a generar y aplicar planes de manejo ambiental para estas áreas (Jorba *et al.*, 2007).

El estudio de los factores que limitan la colonización vegetal en estas áreas degradadas puede ayudar a mejorar las técnicas para recuperar la capa vegetal, permitiendo optimizar el uso de recursos según las necesidades y elaborar planes con posibilidades de éxito (Tormo *et al.* 2009). Al igual que en otros ambientes, en los taludes de carreteras la colonización se ve limitada por la capacidad de dispersión de algunas semillas, por lo que estas laderas son colonizadas principalmente por especies provenientes de áreas cercanas.

ANTECEDENTES

En la última década se ha venido incrementando la actividad minera relacionada con la explotación petrolera especialmente en el sector de Rubiales en Puerto Gaitán, esto ha generado procesos de afectación al medio ambiente. La mayoría de las actividades de desarrollo económico emprendidas por el hombre son, en mayor o menor medida, agresivas para la naturaleza (Jaramillo, 2002), entre ellas, las que conllevan el movimiento de grandes volúmenes de tierra, como en la minería y obras de infraestructura vial, que ocasionan un importante impacto visual, constituyendo una agresión global de tal magnitud, que afecta a casi todos los elementos que integran el medio natural, no sólo al paisaje (IGAC, 2003), puesto que hay destrucción de la cubierta vegetal y de la fauna asociada, pérdida de suelo, aunque en pocos casos se retira la capa superior del yacimiento, ésta no se conserva para ser utilizada posteriormente en las labores de restauración; también se cambia la geomorfología del terreno, en sus perfiles siendo visible

escombreras y huecos, generando contaminación de aguas por lavado de impurezas y minerales (aguas ácidas); contaminación del aire por liberación de partículas de polvo y sustancias tóxicas como emisiones de azufre en la minería del carbón, por ejemplo, y otros residuos perjudiciales los cuales provienen de sustancias peligrosas utilizadas en procesos de extracción de minerales (Maya, 2012). En ausencia de cubierta vegetal las áreas mineras sufren procesos de lixiviación y erosión, contaminando y matando ríos, arroyos, acuíferos y zonas adyacentes.

Frente a la desestabilización de los suelos por medios físicos, la alternativa es cubrirlos con vegetación. Los espacios afectados por actividades mineras deben integrarse en su entorno natural según exige la legislación nacional vigente. Las siembras representan la actuación de revegetación más extendida en el sector minero (Jorba *et al.*, 2007). Con la introducción de especies de cobertura se busca proporcionar servicios al agroecosistema como: evitar erosión, captura y prevención de pérdidas de nutrientes del suelo e incremento de carbono, fijación del nitrógeno, y mejoramiento de sus características físico químicas, por el aumento de la diversidad de organismos benéficos evitando el ataque de plagas (Teasdale, 2004; Ernst, 2004; Navarro *et al.*, 2007).

Los cultivos de cobertura son un recurso importante para la gestión favorable y sustentable de los sistemas de producción agropecuarios, puesto que reducen o evitan la erosión de suelos sin estructura, con alta acidez y pobres en materia orgánica, ocasionada por altas precipitaciones y fuertes vientos (Jaramillo, 2002), el restablecimiento de la cobertura vegetal presenta limitaciones debido a que en la región, se dispone de escasa información sobre esta problemática, por lo cual es importante comprender los factores que controlan el restablecimiento de la cobertura vegetal en las áreas descubiertas y taludes, para así desarrollar alternativas apropiadas para favorecer el proceso de revegetación. La importancia de la investigación consiste en favorecer el proceso de cobertura vegetal.

Suelos de la altillanura

Los suelos presentan un alto grado de evolución, que se manifiesta en el predominio de cuarzo en la fracción arena y de caolinita y óxidos y hierro en la fracción arcilla, pH ácido, altos niveles de aluminio en el complejo de intercambio, también presentan una fase continua de plintita en los primeros 30 cm de la superficie, este componente es una mezcla de arcilla y cuarzo residual con alta concentración de hierro y aluminio, se endurece irreversiblemente cuando se expone a ciclos alternos de humedecimiento y secamiento, por acción directa de los rayos solares. Por su alto grado de meteorización presentan una fuerte acidez y han perdido casi toda su capacidad para suplir nutrimentos a las plantas (CIAT, 2001). Siendo sus arcillas de baja capacidad de intercambio catiónico, están ocupados en su mayoría por el aluminio (tóxico) con saturaciones superiores al 70% limitando el desarrollo de cultivos por la toxicidad de este elemento. A su vez; presentan deficiencia de nutrientes esenciales como nitrógeno, fósforo, calcio y magnesio, potasio y azufre. El fósforo (P) es el nutrimento más limitante para el establecimiento de pasturas (Tabla 1) (Rincón, 1999; Pérez *et al.*, 2009).

Tabla 1. Características químicas de los suelos de la altillanura colombiana

Parámetro	Altillanura disectada	Altillanura plana
pH	4.4-4.9	4.5-5.0
M.O. (%)	1.4-2.4	1.8-3.7
P (ppm)	1.0-2.0	1.0-4.0
Ca (me/100 g)	0.17-0.25	0.20-0.58
Mg (me/100 g)	0.05-0.09	0.07-0.19
K (me/100 g)	0.04-0.06	0.02-0.09
Na (me/100 g)	0.08-0.20	0.07-0.26
Al (me/100 g)	1.4-1.7	1.5-3.5
B (ppm)	0.10-0.20	0.14-0.36
Cu (ppm)	0.2-0.3	0.4-0.9
Zn (ppm)	0.3-0.6	0.4-1.0
Fe (ppm)	15-60	10-460
Mn (ppm)	0.5-5.4	0.8-9.2

Fuente: Rincón, 1999

Requerimientos nutricionales de especies forrajeras tropicales

Para obtener buen desarrollo de los pastos y alta producción de forraje, se han establecido condiciones adecuadas de fertilidad en rangos de contenido de nutrientes en el suelo, para pastos adaptados de menor exigencia y para pastos adaptados con mayores requerimientos de minerales (Tabla 2). Con este contenido de nutrientes en los suelos, lo cual permitirá mejorar los rendimientos y ofrecer un forraje de mejor calidad (Rincón, 1999).

Tabla 2. Rangos de contenido de minerales en los suelos para el buen desarrollo de pastos en la altillanura colombiana

Mineral	Pastos menos exigentes	Pastos exigentes
P (ppm)	5 – 10	10 – 15
K (me/100 g)	0.10 - 0.12	0.15 - 0.20
Ca (me/100 g)	0.5 - 1.0	1.5 - 2.0
Mg (me/100 g)	0.12 - 0.20	0.3 - 0.4
S (ppm)	15 – 20	20 – 25
Zn (ppm)	1.0 - 1.5	1.5 - 2.0
Cu (ppm)	1.0 - 2.0	2.0 - 3.0
B (ppm)	0.5 - 1.0	1 - 1.5

Fuente: Rincón, (1999). Pastos exigentes: *Panicum spp*, *Brachiaria brizantha*, *Brachiaria toledo*. Pastos menos exigentes: *Brachiaria decumbens*, *Brachiaria humidicola*, *Brachiaria dictioneura*

La aplicación de fertilizantes al establecimiento de las praderas tiene por objeto proveer los elementos nutritivos deficientes en el suelo para asegurar un desarrollo rápido y vigoroso de las plantas, y una alta producción de forraje de las praderas (Faria, 2006). Esta debe realizarse teniendo en cuenta los resultados del análisis de suelos y los requerimientos de la especie forrajera a establecer. Para suelos ácidos, con alta saturación de aluminio (Al), como son los de la región, las fuentes de fósforo, calcio (Ca) y magnesio (Mg) deben ser de lenta solubilidad como: las rocas fosfóricas (18-22% de P₂O₅), y cal dolomita, como fuente de Ca y de Mg (Zapata, 2003). Otras fuentes importantes de calcio y fósforo de mayor solubilidad que la roca fosfórica son el abono paz del río y las rocas parcialmente aciduladas las cuales han sido tratadas con ácido para mejorar la disponibilidad de

fosforo. También se recomienda el yeso agrícola que proporciona calcio y azufre en forma de sulfato, que es el compuesto como la planta lo absorbe por las raíces (Osorno, 2012). Este compuesto junto con la cal dolomita cumple la función de reducir la saturación de aluminio en el suelo y aumentar los contenidos de bases intercambiables (Ca, Mg, K) sin embargo, la principal ventaja del yeso agrícola es el movimiento que tiene el calcio en el suelo cuando está unido al sulfato, permitiendo su mayor disponibilidad a niveles más profundos favoreciendo el desarrollo de raíces de los pastos (Gómez *et al.*, 2001).

Con respecto a la fertilización con elementos menores, investigaciones que se realizaron en Carimagua (CIAT, 1994), demostraron que en gramíneas y leguminosas forrajeras no se obtiene efecto positivo con la aplicación de micronutrientes sobre la disponibilidad de forraje. La cantidad de boro y manganeso disponibles bajo condiciones de sabana nativa es adecuada para el establecimiento de pastos, mientras que las aplicaciones de zinc y cobre al suelo mejoran su contenido en las gramíneas, lo cual es importante ya que sin la aplicación de estos microelementos los niveles serían inferiores a los requeridos por el animal, por lo tanto, la fertilización de mantenimiento con zinc y cobre es importante en praderas de gramíneas puras (Rincón, 2006).

Características de especies forrajeras

Para las condiciones naturales de baja fertilidad de estos suelos se han evaluado y seleccionado pastos principalmente del género *Brachiaria* sobresaliendo el *Brachiaria decumbens* cv. Amargo, *Brachiaria humidicola* cv. Dulce y el *Brachiaria dictyoneura* cv. Llanero; especies que con mínimos insumos han permitido aumentar la productividad, sin embargo, para conservar su potencial de crecimiento y persistencia, y evitar su degradación, es necesario hacer fertilización de establecimiento y mantenimiento. Las gramíneas y leguminosas que se recomiendan en cada región, son el producto del proceso investigativo desarrollado por varias instituciones públicas y privadas del país en las dos últimas

décadas, con base en las experiencias de manejo y respuesta productiva (CIAT, 1988).

Brachiaria decumbens. Nombres comunes: pasto amargo, pasto peludo, brachiaria. Originario de África Ecuatorial, se adapta con éxito en Australia, el Caribe, Brasil y en Colombia (Figura 1). Se introdujo a Colombia en 1953, crece bien en regiones de baja fertilidad con sequías prolongadas y suelos bien drenados del piedemonte de la altillanura colombiana (Rincón, 2011). Se recupera rápidamente después del pastoreo, compite bien con las malezas y soporta la quema. No crece bien en zonas inundables y es muy susceptible al ataque del “mión o salivazo” (*Aeneolamia sp*). Crece bien entre 400 y 1800 msnm, con una precipitación de 1000 a 3500 mm/año y temperaturas superiores a los 19 °C. (Ramírez *et al.*, 2012).

Se puede establecer con material vegetativo o por medio de semilla sembrando a una distancia entre tallos o cepas de 80 a 100 cm a una profundidad de 8 a 12 cm en el suelo. Cuando se usa semilla, la siembra puede efectuarse con voleadora, sembradora de precisión, encaladora o en forma manual al voleo. Se recomienda utilizar de 2 a 3 kg de semilla escarificada con 90 a 95% de pureza (Belalcazar *et al.*, 1995).

Las ventajas de esta especie son: rápido establecimiento, buena producción y calidad de semilla, fácil propagación, se asocia bien con leguminosas, posee un adecuado valor nutritivo y consumo, soporta la quema y tiene buena recuperación. Sus desventajas son: susceptibilidad al salivazo, es fotosensibilizador principalmente en animales jóvenes, los equinos no lo consumen, no soporta suelos húmedos y es lenta su recuperación y tiene bajo vigor en suelos arenosos (Rincón, 2011).

Brachiaria dictyoneura. Nombre común: Pasto llanero. Originario de África tropical, se adapta bien a condiciones de suelos ácidos, de baja fertilidad, con textura de franco a arcillosos y de buen drenaje (Figura 2). Tiene buen comportamiento en regiones tropicales desde 0 hasta 1800 msnm, con

precipitaciones entre 1500 y 3500 mm al año (Rincón, 2011). Esta especie se caracteriza por una cobertura inicial baja como consecuencia de la latencia prolongada de la semilla. Una vez alcanzado el óptimo establecimiento, esta especie proporciona una protección eficiente del suelo por su crecimiento estolonífero y rizomatoso. Persiste bajo pastoreo excesivo, debido a que sus nudos de crecimiento son de corta longitud (Belalcazar *et al.*, 1995).



Figura 1. Pasto *Brachiaria decumbens*



Figura 2. Pasto *Brachiaria dictyoneura*

Esta especie se puede sembrar con semilla cariósida o por material vegetativo, utilizando cepas o estolones y en este último caso el establecimiento es lento, debido al escaso enraizamiento. La cantidad de semilla o de material vegetativo depende del sistema de siembra; cuando se utiliza semilla la cantidad depende de su calidad (pureza y germinación) y de las condiciones del terreno. Se recomienda utilizar de 3 a 4 kg/ha de semilla escarificada con 90 a 95% de pureza, y semilla pura germinable superior al 10% (Franco *et al.*, 2005).

El pasto llanero se adapta bien a condiciones de suelos ácidos y de baja fertilidad, es tolerante a la sequía y se recupera bien después de la quema, tolera el ataque de cercópodos, tiene buena compatibilidad con leguminosas tipo *Arachis pintoj*, con buena palatabilidad y valor nutritivo medio, su producción de semilla es buena con crecimiento invasor. Es mejor establecerlo con semilla porque es susceptible al ataque de hormigas, tiene un escaso enraizamiento de estolones, además se requiere mayor densidad de siembra en áreas con alto potencial de malezas, la

latencia de su semilla es prolongada y es la más difícil de romper del género *Brachiaria*, además no tolera encharcamientos prolongados (Olivera *et al.*, 2006).

Brachiaria humidicola. Nombre común: Pasto dulce. Es nativo de África tropical oriental y sur oriental, en zonas con alta precipitación (Figura 3). Introducido a Colombia en 1973 por el CIAT, ha sido evaluado en diferentes ecosistemas entre estos la altillanura colombiana (Belalcazar *et al.*, 1995). Crece bien en regiones tropicales desde el nivel del mar hasta 1800 msnm y precipitación pluvial de 1500 a 4000 mm al año. Se adapta a un rango amplio de ecosistemas, con buen comportamiento en suelos húmedos de franco arenosos a arcillosos con buen drenaje, ácidos y pobres en minerales, tolerante a la sombra y por su fuerte y alto crecimiento estolonífero puede ser usado como control de la erosión, por lo que no se puede asociar con algunas leguminosas (Keller *et al.*, 1996; Olivera *et al.*, 2006).

Esta gramínea requiere para un buen establecimiento 3 a 4 kg/ha de semilla escarificada, con germinación superior al 22% y pureza del 90%; cuando se propaga por material vegetativo (estolones y cepas) y por semilla, tiene crecimiento estolonífero vigoroso y denso, es agresivo, poco compatible con leguminosas excepto *Arachis pintoi* y *Desmodium ovalifolium*; soporta alta carga animal en pastoreo, tolera los excesos de humedad en el suelo, pero no encharcamiento prolongado, además tolera la sequía, sin embargo en suelos arenosos disminuye su producción de forraje (Martínez *et al.*, 2008), aunque resiste el ataque de plagas, en zonas muy húmedas es susceptible a la roya (*Uromyces setaricae italicae*) (Jimenez *et al.*, 2010).

Como desventajas puede hospedar altas poblaciones del mión de los pastos que ocasiona daños severos, produce poca semilla viable y presenta latencia prolongada, su contenido de proteína cruda es bajo, lo cual afecta su consumo voluntario y la ganancia de peso, la calidad del forraje disminuye rápidamente a través del tiempo y la productividad animal es menor que en otras especies de *Brachiaria* (Cruz *et al.*, 2011).

ESTRATEGIAS INTEGRALES DE CAMPO

Actualmente en el Campo Rubiales y su zona de influencia existen áreas intervenidas para extracción de materiales con destino a obras de ingeniería, con una extensión estimada en 1300 hectáreas, que demandan la aplicación o implementación a corto y mediano plazo, de prácticas que permitan mitigar los efectos ambientales de la actividad petrolera, y cumplir con la normatividad ambiental, CORPOICA propuso desarrollar un plan de actividades para desarrollar estrategias para restablecer la capa vegetal en áreas descapotadas, taludes, cortes de serranía con plintita expuesta, mediante la aplicación de prácticas integrales de manejo como: recuperación de suelos, obras de geotecnia, establecimiento y mantenimiento de coberturas vegetales.

Etapas de establecimiento para la recuperación de la capa vegetal

Mediante una evaluación preliminar en campo se pudieron identificar tres categorías de áreas a intervenir donde se aplicaron prácticas de manejo agronómico de acuerdo a las condiciones de cada terreno. Las especies de coberturas que se utilizaron corresponden a gramíneas principalmente del género *Brachiaria* con buena adaptación y desarrollo rápido en condiciones de la altillanura disectada colombiana (Tabla 3). Los requerimientos de correctivos a incorporar y semillas se determinaron con base a los análisis de suelo en las diferentes condiciones predominantes (Tabla 4), los fertilizantes comerciales recomendados se mezclaron bajo criterios de disponibilidad permanente de nutrientes que permitieran un buen desarrollo de los pastos (Tabla 5). Adicionalmente, se realizaron labores de siembras con material vegetativo en áreas no mecanizables (elevadas pendientes, montones de plintita y lodos sin extender) o en efecto, en procesos de resiembra manual. De acuerdo con las características de las áreas intervenidas el procedimiento de recuperación de la cobertura vegetal fue el siguiente:

Tabla 3. Especies vegetales a evaluar en procesos de revegetación

Especies	Nombre común	Característica
<i>B. humidicola</i>	Pasto dulce	Estolonífera agresiva, requiere baja fertilidad.
<i>B. dictyoneura</i>	Pasto llanero	Estolonífera, menor agresividad, requiere mediana fertilidad
<i>B. decumbens</i>	Pasto amargo	Crecimiento de macolla, baja agresividad, requiere mediana fertilidad.

Tabla 4. Análisis de suelo para la recuperación de la cobertura vegetal

Parámetro	Campo Rubiales	Área con lodos
pH	4.94	5.33
M. O. (%)	2.91	2.44
P (ppm)	2.9	2.0
Ca (me/100 g)	0.91	1.02
Mg (me/100 g)	0.23	0.11
K (me/100 g)	0.08	0.07
Na (me/100 g)	0.04	0.06
Al (me/ 100 g)	1.33	0.51
B (ppm)	0.09	0.09
Cu (ppm)	0.84	0.80
Zn (ppm)	0.52	0.24
Fe (ppm)	189	492.24
Mn (ppm)	29.60	5.1

Tabla 5. Fertilizantes utilizados en el proceso cobertura vegetal

Fertilizantes	Cantidad kg/ha
Cal dolomita	500-600
Roca fosfórica	300-400
Yeso agrícola	150-200
Abono paz del rio	150-250
Urea	75-100
Triple 15	75-100
DAP	75-100
KCl	75-100

Áreas descapotadas completamente: su cobertura vegetal y primeros perfiles del suelo han sido removidos por completo, dejando el subsuelo expuesto y representan cerca del 40 a 45% del área a intervenir. Presentan pendientes menores a 3% y no presentan barreras físicas para la mecanización, pero en términos de contenidos de minerales en el suelo puede restringir el desarrollo de especies herbáceas introducidas (Figura 4). En estas áreas descapotadas completamente se realizó una preparación del terreno e incorporación de insumos mediante un pase de cincel y/o un pase de rastrillo pulidor suave cuidando de no exponer el suelo a la erosión. De acuerdo con los requerimientos de las especies a establecer se estimó la aplicación de una mezcla de cal dolomita 500 kg/ha, roca fosfórica 300 kg/ha y yeso agrícola 150 kg/ha en el proceso de incorporación de enmienda.



Figura 3. Pasto *Brachiaria humidicola*



Figura 4. Áreas descapotadas completamente

La siembra se realizó con especies de gramíneas en monocultivo o en mezcla de materiales como: *B. decumbens* 2 a 3, *B. humidicola* 3 a 4, y *B. dictyoneura* 3 a 4 kg de semilla por hectárea, calcificada y escarificada según el forraje. Estas especies se adaptan a condiciones de clima y suelo de la altillanura, también influyó para su establecimiento la calidad de la semilla o disponibilidad comercial y el hecho de que en algunos casos se utilizó material vegetativo (cepas y estolones).

Áreas de serranía con plintita expuesta: su cobertura vegetal y parte de la capa de plintita ha sido removida, la cual por sus características físicas y químicas constituye una barrera compleja para la adecuación del terreno y el establecimiento y desarrollo de cualquier especie vegetal, puede presentar pendientes superiores a 3%, ocupa un área aproximada del 40 a 45% del total (Figura 5).

En algunas partes de serranía con plintita expuesta se aplicó una capa de lodo, se preparó el terreno con un pase de rastra o rastrillo pulidor, aplicación e incorporación de enmienda para posteriormente realizar la siembra, la cual se realizó directamente con semilla o material vegetativo de las especies de cobertura (Tabla 3). En estas zonas se determinó la necesidad de realizar algunas obras de protección y adecuación (zanjas de drenaje y terrazas) que garantizaran la estabilidad del terreno, el establecimiento y persistencia de las coberturas con implementos agrícolas como caballoneadores y zanjadoras. El material proveniente de los cortes de perforación (lodos) se utilizó de acuerdo con los volúmenes y la facilidad de disposición en los sitios de trabajo por parte de Meta petroleum (Figura 6).



Figura 5. Áreas de serranía con plintita expuesta



Figura 6. Áreas de serranía con lodos

Se inició labores de recuperación de la capa vegetal con la calibración de la encaladora con el fin de verificar la cantidad de fertilizantes y semillas a distribuir

por hectárea, una vez preparado el suelo (rastra, rastrillo pulidor, cincel) se evaluó la profundidad efectiva para el desarrollo óptimo del sistema radicular de las pasturas. En cuanto a las obras de protección posterior a la siembra, se utilizó una zanjadora y un caballoneador con el fin de disminuir el arrastre de semilla e insumos por acción del agua, especialmente con zonas con pendiente pronunciada (Figura 7).

Culminadas las actividades de establecimiento de los lotes se llevó a cabo el geoposicionamiento satelital del área con GPS y su respectiva identificación en campo (tramo, locación y número de lote). De esta forma se conformó una base de datos tomados cada semana, con el fin de llevar registro e historial de cada lote con la información de campo de las áreas en proceso de recuperación, como: tramo, número de lote, cuantificación de área sembrada, fecha de siembra, mecanización del terreno, método de siembra y observaciones) (Tabla 6).

Tabla 6. Formato de información de áreas en proceso de recuperación

Identificación	Área (M ²)	Mecanización	Siembra	Fecha de Siembra	Observaciones
RB 161 RE1	1259	Dos pases rastrillo pulidor	Encaladora (Enmienda +semilla; <i>B. decumbens</i> y <i>B. dictyoneura</i>)	18-Abril/10	Área de Extracción
RB 161 RE2	6431	Dos pases rastrillo pulidor	Encaladora (Enmienda +semilla; <i>B. decumbens</i> y <i>B. dictyoneura</i>)	11-Abril/10	Área con lodos; Resiembra con mat. vegetativo (montones de lodos)
RB 161 RE3	22315	Dos pases rastrillo pulidor	Encaladora (Enmienda +semilla; <i>B. decumbens</i> y <i>B. dictyoneura</i>)	14-Abril/10	Área con lodos. Resiembra con mat. vegetativo (montones con
RB 161 RE4	8120	Dos pases de escardillo cruzado	Encaladora (Enmienda +semilla; <i>B. decumbens</i> y <i>B. dictyoneura</i>)	08-Abril/10	Área de Extracción; montones de lodos)

Etapa de mantenimiento de áreas en proceso de recuperación

Una vez realizado el establecimiento y toma de información de campo se llevó a cabo seguimiento de estas áreas con evaluaciones de germinación (30 y 60 días)

y cobertura (120 días). Según los resultados de las evaluaciones se determinaron los requerimientos de fertilización y de resiembra, al tiempo se observó el crecimiento y desarrollo de las plantas, el vigor y los problemas fitosanitarios.

Evaluaciones de germinación

La evaluación de emergencia de los materiales establecidos en campo (*B. decumbens*, *B. humidicola* y *B. dictyoneura*) se llevó a cabo mediante muestreos aleatorios representativos con un marco de 50 cm x 50 cm, a los 30 y 60 días después de la siembra (Figura 8). Teniendo en cuenta el conteo de plantas germinadas y plantas muertas, entre 10-20 muestreos por área dependiendo del tamaño del lote, la información se consignó de acuerdo a un formato de campo (Tabla 7).

Tabla 7. Formato de evaluación de germinación

Lotes	Plantas / 5 m ²	Plantas / ha	Observaciones
RB 161- RE1	110	220.000	Resiembra en zonas de alta comparación
RB 161- RE2	148	296.000	Plántulas amarillentas. Fertilización
RB 161- RE3	74	148.000	Realizar drenajes
RB 161- RE4	564	1.128.00	Buena población de plántulas, buen vigor.
RB 161- RE5	104	208.000	La germinación no es homogénea. Resiembra.
RB 161- RE7	60	120.000	Realizar drenajes
RB 161- RE8	130	260.000	Resiembra con material vegetativo

Evaluaciones de cobertura

Teniendo en cuenta las condiciones específicas de siembra de las áreas intervenidas, se determinó con la interventoría del proyecto un periodo de establecimiento de 120 días al final del cual se realizó la evaluación de cobertura

de cada uno de los lotes para definir su entrega (Figura 9). Todas las evaluaciones de campo se realizaron con el interventor, y consistió en una valoración del porcentaje de cobertura, teniendo en cuenta un requerimiento mínimo del 70% de cobertura del suelo. Los lotes evaluados que no cumplían con el porcentaje exigido, se les daba un periodo adicional para lograr la cobertura, teniendo en cuenta la capacidad estolonífera de las especies establecidas (*B. humidicola* y *B. dictyoneura*).



Figura 7. Evaluación y calibración de maquinaria agrícola



Figura 8. Evaluación de germinación en áreas de Revegetalización

Fertilización

Debido a que los lotes intervenidos son áreas de extracción que presentan limitantes químicos, físicos y biológicos se hizo necesario aplicar fertilizantes solubles durante la fase de establecimiento para garantizar un adecuado desarrollo de las especies (30 a 45 días de siembra dependiendo del régimen de lluvias de la zona) debido a que las fuentes utilizadas tienen mayor eficiencia cuando el suelo se encuentra con una humedad cercana a la capacidad de campo. Se emplearon fuentes solubles comerciales como Fosfato diamónico (DAP), Urea, y Cloruro de Potasio (KCl) en relación 1:1:1 (50 kg) y dosis de 75 kg/ha de la mezcla (Figura 10). Según las evaluaciones y observaciones en campo, se determinó el requerimiento de una segunda fertilización general o

focalizada, la cual tuvo la misma composición de la primera e igual dosificación. Las áreas con pendientes pronunciadas fueron priorizadas con el fin de favorecer el desarrollo y anclaje de las plántulas, garantizando un mayor número de plantas y mejor cobertura, disminuyendo la vulnerabilidad del terreno por acción de la escorrentía.



Figura 9. Evaluación de cobertura en áreas de Revegetalización



Figura 10. Fertilización general de áreas de Revegetalizadas

Resiembra

En la germinación en campo, se consideraron los resultados de las evaluaciones de variables como: densidad de población, crecimiento y desarrollo de las plantas, distribución y vigor, con lo cual se determinó la necesidad de resiembra. Según el tamaño del área, se definió el método de siembra utilizando semilla cariósida o material vegetativo (Figura 11).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Labores de preparación de terreno y siembra

Las labores de siembra y el desarrollo de las actividades de recuperación de la capa vegetal en campo Rubiales se iniciaron a principios del mes de Abril del 2010 (comienzo de época de lluvias) y culminó a finales del mes de Octubre del 2010 cuando se empezó la temporada seca en la región. El proceso inició con la

identificación y ubicación de áreas de extracción con plintita expuesta, áreas con lodos y áreas descapotadas completamente en los diferentes tramos priorizados, durante las primeras intervenciones se identificaron una serie de limitantes, siendo necesario efectuar ajustes en las prácticas agronómicas para asegurar una adecuada recuperación de la cobertura de las áreas. Para esto se consideraron aspectos básicos para el establecimiento de praderas, como la selección del lote y su topografía, las características fisicoquímicas del suelo, la precipitación anual y su distribución, selección de especies forrajeras a sembrar, prácticas de preparación y siembra, y previsión de problemas relacionados con ataque de plagas.

Así mismo y en concordancia con los anteriores aspectos, fue necesario evaluar otras alternativas de recuperación de la capa vegetal, acordes con las condiciones naturales propias de la zona asociadas a pendientes del terreno, alta precipitación y escorrentía superficial, además de algunos ajustes técnicos durante la fase de establecimiento como la inclusión de otra fuente de fósforo y la incorporación parcial de insumos para asegurar un mejor suministro o disponibilidad de nutrientes a las plantas en diferentes fases de desarrollo (Figura 12).



Figura 11. Resiembra parcial con material vegetativo en área con lodos



Figura 12. Resiembra parcial mecanizada con semilla en área de plintita expuesta

Este proceso de ajuste se llevo a cabo en los primeros tramos establecidos (RB161 y RB116). En estos tramos se encontró condiciones heterogéneas de topografía, tamaño y forma de los lotes, presencia en áreas comunes de lodos, plintita expuesta y descapotadas que restringieron la ejecución definida para cada condición de suelo haciendo ineficiente las labores y generando la necesidad de unificar las practicas generales de preparación de suelos, fertilización y siembra (Figura 13).

En cuanto a las especies forrajeras para desarrollar los procesos de recuperación de cobertura vegetal se seleccionaron materiales como *B. decumbens*, *B. humidicola* y *B. dictyoneura* con base en su capacidad de adaptación, su rusticidad y persistencia en condiciones de alta saturación de aluminio y baja disponibilidad de nutrientes. Se utilizó una mezcla de *B. decumbens* con *B. humidicola* o con *B. dictyoneura*, teniendo en cuenta la rápida emergencia y cobertura de *B. decumbens*, complementada con la capacidad estolonífera y adaptación de *B. humidicola* y *B. dictyoneura*. En algunos lotes con alta saturación de humedad se privilegió la mezcla *B. decumbens* - *B. humidicola* a sabiendas que el *B. decumbens* desaparece prematuramente y queda el *B. humidicola* de buen comportamiento y desarrollo en estas condiciones. En consecuencia, el efecto del exceso de humedad fue notorio en áreas con lodos, especialmente sobre las plántulas de *B. decumbens* (Figura 14).



Figura 13. Topografía del terreno



Figura 14. Problemas de encharcamiento en área con lodos

Los resultados indican que durante la fase de establecimiento (20 días después de la siembra) se presentó una moderada población de plántulas (5-6 plántulas/m²). Este comportamiento se confirmó en una evaluación a los 60 días en donde predominaron las plántulas de *B. humidicola* y *B. dictyoneura* (Tabla 8).

Para contrarrestar el efecto del exceso de humedad y garantizar la supervivencia de las plantas existentes en áreas con lodos, se realizaron drenajes en algunas zonas, utilizando de acuerdo a la pendiente y la acumulación de agua, implementos agrícolas como caballoneador y zanjadora, para reducir la velocidad del agua de escorrentía y el movimiento de materiales (suelo, insumos, semillas) y así mismo reducir problemas de erosión. También se realizaron labores de fertilización focalizada y resiembras con material vegetativo con el fin de obtener una cobertura mínima del 70%.

Por otro lado, el procedimiento de recuperación de la cobertura vegetal en áreas con plintita expuesta consistió en la preparación del suelo con dos pases de rastrillo de escardillo y la siembra con la encaladora aplicando 950 kg/ha de una mezcla compuesta por 500 kg de cal dolomita + 300 kg de roca fosfórica + 150 kg de yeso agrícola y 7 kg de mezcla de semillas de gramíneas compuesta por 4 kg de *B. decumbens* + 3 kg de *B. dictyoneura* o *B. humidicola*.

En las primeras semanas de establecimiento en la mayoría de los lotes se mantuvo un porcentaje alto de germinación, buena población de plántulas y vigor; sin embargo, a los 60 días se observó una reducción en la población de plántulas, debido particularmente a las pérdidas por arrastre de semillas o de plantas resultando mayor cobertura en zonas bajas con problemas de anclaje del sistema radicular.

Tradicionalmente en el establecimiento de una pastura, una vez preparado el lote se procede a realizar la siembra, utilizando una mezcla de los fertilizantes de establecimiento (roca fosfórica, cal dolomita, yeso agrícola) con las semillas, sin embargo, se modificó porque se hizo una preparación tradicional con rastra e incorporación de correctivos al suelo. Además, teniendo en cuenta los

requerimientos nutricionales de las pasturas establecidas bajo condiciones de suelos ácidos, donde el fósforo (P), es el mineral más limitante e influye en la capacidad del suelo de suplir nutrientes para asegurar un desarrollo rápido y vigoroso, se aumentó la aplicación de fertilizantes al momento de la siembra con fuentes de calcio y fósforo como el abono paz del río (calfos).

El establecimiento se realizó de la siguiente forma: un pase de rastra, posteriormente se aplicaron los correctivos en dosis de 850 kg/ha de una mezcla compuesta por 450 kg de cal dolomita + 250 kg de roca fosfórica + 150 kg de yeso agrícola, y luego se incorporó con un pase de rastra, finalmente se realizó la siembra con una mezcla de 150 kg de calfos + 50 kg de cal dolomita + 50 kg de roca fosfórica + 7 kg de mezcla de semillas de gramíneas (3 kg de *B. decumbens* + 2 kg de *B. dictyoneura* + 2 kg de *B. humidicola*). Con esta práctica de incorporación de correctivos se buscó dar una mejor distribución de los nutrientes en el perfil del suelo para reducir las posibles pérdidas por arrastre superficial de los materiales (semillas e insumos). En áreas con pendiente pronunciada, posterior a la siembra se realizaron obras de protección con caballones con el fin de disminuir el efecto de escorrentía del agua en el suelo.

En áreas completamente descapotadas fue necesario incrementar la fertilización al momento de la siembra adicionando 200 kg/ha de calfos, logrando un mejor y rápido desarrollo de las plántulas antes de ser fertilizadas con fuentes solubles, garantizando una mayor cobertura y una reducción en las áreas de resiembra. Desde la primera evaluación de emergencia (20 días) se evidenció áreas con buena población de plantas, sin embargo, existieron zonas donde el crecimiento no fue el óptimo, por lo tanto, se requirió de resiembras focalizadas (Tabla 8).

El aumento de la cantidad de calfos al momento de la siembra permitió obtener buenos resultados en el proceso de emergencia de los materiales a los 20 días de establecimiento, y de esta forma realizar labores de fertilización temprana: entre los 30 a 45 días después de la siembra, con el fin de lograr la entrega oportuna de

los lotes dentro del periodo de evaluación de 120 días, con un criterio mínimo del 70% de cobertura.

Tabla 8. Población de plántulas a los 20 y 60 días de edad en lotes de recuperación de la capa vegetal

Identificación del lote	Número de plantas/ha					
	Suelo descubierto		Plintita expuesta		Lodos	
	20 días	60 días	20 días	60 días	20 días	60 días
1	450.000	200.000	564.000	236.000	148.000	121.000
2	116.000	190.000	130.000	102.000	74.000	90.000
3	273.000	470.000	180.000	60.000	120.000	105.000
Promedio	279.667 ^a	286.667 ^a	291.333 ^a	132.667 ^a	114.000 ^a	105.333 ^a

*Promedios seguidos con la misma letra en la fila no presentan diferencia significativa según prueba de Tukey ($P>0,05$)

Para los lotes CLRE60 y CLRE61 se realizó la primera fertilización a los 35 días de la siembra, con una mezcla de 50 kg de urea, 50 kg de DAP y 50 kg de KCl, y una dosis de 75 kg/ha de la mezcla, para el RE75 se hizo una aplicación de 75 kg/ha de una mezcla compuesta por 50 kg de agrimins (8-5-0-6), 15 kg de fosfitec (0-52-34) y 100 kg de Triple 15 a los 75 días después de la siembra, teniendo en cuenta la humedad óptima del suelo para que las plantas puedan absorber los nutrimentos, lo que permitió áreas con buen desarrollo y crecimiento de plantas, macollas vigorosas y capacidad estolonífera de los materiales.

Germinación de materiales en campo

Luego de las primeras intervenciones en campo, se escogieron aleatoriamente tres lotes por condición de suelo con el fin de verificar los resultados encontrados durante el proceso de establecimiento de las especies de cobertura bajo los procedimientos propios a las áreas a intervenir teniendo en cuenta la fase de emergencia, comportamiento y persistencia de los materiales en zonas con las limitaciones anteriormente descritas.

En relación con la población de plantas encontradas en los tres tipos de suelo intervenidos, no se encontró diferencias significativas ($P<0,05$) entre los tipos de

suelo a los 20 y 60 días de siembra (Tabla 8), sin embargo, se observó una variación en la población de plantas a diferentes edades de muestreo. Mientras que en áreas descapotadas completamente aumentó la población de plantas a los 60 días en relación con la población encontrada a los 20 días (286.667 vs. 279.667), en áreas con lodos y plintita expuesta disminuyó la población de plantas, comportamiento asociado posiblemente a varios factores como las condiciones contrastantes de suelo, variabilidad de pendientes, gradiente de humedad (escorrentía y encharcamiento) y disponibilidad de nutrientes. Con base en estos resultados se determinó ajustar las prácticas de recuperación de la cobertura vegetal acorde a las condiciones contrastantes propias de las áreas, teniendo en cuenta aspectos de relevancia como la selección de especies de cobertura, ubicación del lote y su topografía, época de preparación del terreno y siembra, tipo e intensidad de labranza, densidad de siembra, plagas, al igual que el manejo de los lotes en las primeras semanas después de la siembra, factores que en su conjunto favorecen un rápido y vigoroso desarrollo de las especies (Tabla 9).

Tabla 9. Recomendaciones técnicas para el establecimiento de gramíneas en tres tipos de suelos en recuperación

Dosis de insumos (kg/ha)	Dosis de semilla (kg/ha)	Mecanización	Observaciones
Presiembra: Cal dolomita 450 kg/ha, Roca Fosfórica 250 kg/ha, Yeso Agrícola 150 kg/ha Siembra: Cal dolomita 50 kg/ha, Roca Fosfórica 50 kg/ha, Abono paz del rio 150 kg/ha.	Dosis de semilla: 7 kg/ha B. decumbens 3 kg/ha B. dictyoneura 2 kg/ha B. humidicola 2 kg/ha	Rastra 2 a 3 pases uno para preparación de suelo y otro para incorporación de enmienda)	Posterior a la siembra; en áreas con pendientes pronunciadas se realizaron obras de protección con caballones y/o zanjas.

Luego de haber efectuado los ajustes pertinentes en la metodología de establecimiento de especies de cobertura, se continuó con las labores de cobertura a partir del tramo RB 104, teniendo en cuenta la ejecución de obras adicionales como siembras con material vegetativo en áreas de difícil acceso (no

mecanizables), obras de protección en áreas con pendientes pronunciadas con caballones y zanjas de drenaje, aumento de la dosis de calfos en áreas descapotadas completamente, y frecuencia de fertilización de áreas en recuperación de la capa vegetal (30-40 días después de la siembra) con el fin de entregar los lotes a los 120 días con un criterio mínimo del 70% de cobertura.

Culminando las actividades de cobertura, se llevó a cabo la evaluación del establecimiento en las tres condiciones de suelo (lodas, plintita y descapotadas), teniendo en cuenta que los procedimientos de intervención fueron similares para los tres. La labor de fertilización en todas las áreas no fue homogénea y se limitó de acuerdo con las condiciones de humedad del suelo asociadas a la precipitación en las áreas intervenidas. En muchos casos la falta de lluvia determinó la acumulación de áreas pendientes de fertilizar y afectó el número de plántulas, su vigor, viabilidad, la cobertura y la entrega oportuna de lotes dentro del periodo establecido.

En las áreas en donde se aumentó la cantidad de calfos al momento de la siembra y se realizó fertilización temprana, se logró coberturas de suelo superiores al 80% al cabo de la fase de establecimiento (120 días), principalmente en áreas descapotadas completamente (Figura 15).



Figura 15. Área descapotada completamente con 90% de cobertura (120 días)

Las variables agronómicas altura, cobertura y producción de forraje no fueron significativamente diferentes ($P>0,05$) en condiciones contrastantes de suelo, sin embargo, es importante resaltar la edad a la cual se tomó la información en cada condición de suelo (Tabla 10). Cabe destacar el comportamiento de los materiales establecidos en áreas descapotadas en términos de cobertura de suelo y producción de forraje en un periodo relativamente corto (172 días).

Áreas de recuperación de la cobertura vegetal

En el año 2010 se alcanzaron a recuperar las 231,26 ha en campo Rubiales, distribuidas en 19 tramos o vías internas y 270 lotes. Además, se adelantaron labores de preparación temprana de suelo (incorporación de enmienda), alcanzado un total de 129 has mecanizadas para desarrollar la siembra. Aunque todos los 270 lotes cumplieron el tiempo requerido para la evaluación de cobertura (120 días de establecimiento), no todos pudieron ser entregados con base en el criterio de un mínimo del 70% de cobertura del suelo, del total de los lotes sembrados, 122 lotes correspondientes a 105.7 has pudieron ser entregados lo que representa al 46% del área total de trabajo (231,2 ha). El 54% restante del área total sembrada correspondiente a 125.7 ha se entregó durante el año 2011 (Figura 16). Para asegurar una adecuada cobertura se determinó un tiempo adicional, siguiendo las recomendaciones específicas para cada área como resiembras y fertilizaciones generales, y focalizadas.

Tabla 10. Variables agronómicas de coberturas vegetales en tres condiciones de suelo al final de la fase de establecimiento, Rubiales.

Tipo de suelo	Edad (días)	Altura (cm)	Cobertura (%)	Forraje (kgMS/ha)
Área de lodos	291	78,4	69,6	7731,7
Área con plintita expuesta	259	67,6	80,1	7069,6
Área descapotada	172	47,0	67,0	6553,3
CV	-	12,1	20,7	41,2
Significancia	-	ns	Ns	ns

*ns= no significativa. MS= Materia seca

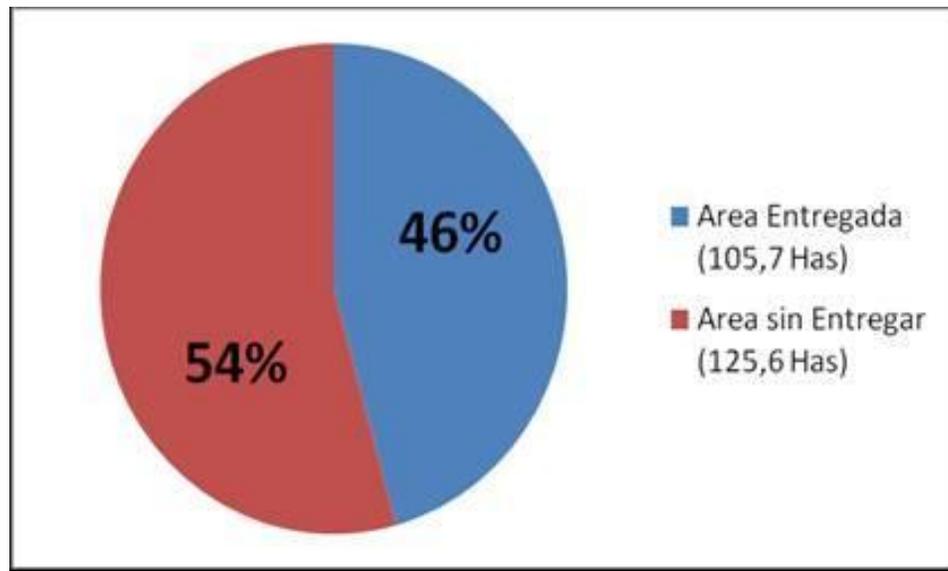


Figura 16. Estado de áreas revegetalizadas en campo Rubiales

Existen varios factores que determinaron la entrega de áreas formalmente a PRE, entre otras condiciones limitantes específicas de las áreas a intervenir, el sistema de siembra inicial, la pérdida de plantas por escorrentía y encharcamientos, la demora en la aplicación de fertilizaciones de mantenimiento, la topografía con pendientes pronunciadas, todo esto dificultó y limitó el desarrollo y rendimiento de las labores de enmienda y fertilización. Las Figuras 17 y 18 ilustran el comportamiento de dos tipos de suelo (descapotado y con plintita expuesta), a los 120 días después de la siembra, bajo el nuevo sistema de establecimiento.



Figura 17. Evaluación de cobertura 95% área descapotada (120 días)



Figura 18. Evaluación de cobertura área con plintita expuesta 95% (120 días)

Preparación temprana de lotes

Una vez finalizadas las labores de siembra en octubre de 2010, se iniciaron las actividades de preparación temprana de lotes durante los meses de noviembre y diciembre al final de la época de lluvias. Además de hacer un uso más eficiente del tiempo y adelantar actividades sobre áreas a intervenir durante el año 2011, a través de esta práctica se buscó controlar algunas plagas como las hormigas cortadoras (*Atta sp* y *A. landolti*) que afectan el establecimiento de pastos en condiciones de la altillanura, además se estimuló la mineralización de la materia orgánica incorporando (Ca, P, Mg, S) mejorando la condición del suelo para la siembra de especies de cobertura

CONCLUSIONES

Es necesario planificar las actividades de preparación de suelos, obras de geotecnia, siembra, niveles y épocas de fertilización para asegurar los procesos de recuperación de la cobertura vegetal.

La incorporación parcial de fuentes de fósforo como el calfos en el proceso de ajuste de las prácticas de establecimiento dieron buenos resultados en las áreas a recuperar, mejorando el suministro y/o disponibilidad de nutrientes para las plantas en diferentes fases de desarrollo, asegurando la entrega oportuna de los lotes a los 120 días de siembra con criterio del 70% mínimo de cobertura.

Los materiales forrajeros seleccionados en el proceso de recuperación (*B. decumbens*, *B. dictyoneura* y *B. humidicola*), demostraron adaptación a las condiciones edafoclimáticas de la zona.

RECOMENDACIONES

La fertilización temprana de los lotes con fuentes solubles puede ayudar a contrarrestar efectos negativos como la escorrentía sobre las plántulas, pues se puede lograr su desarrollo más rápido y vigoroso, además se mejora el anclaje, mayor población de plantas por unidad de área, teniendo en cuenta el momento

de la fertilización la cual debe realizarse entre los 30-45 días después de la siembra, sin embargo, esta labor está determinada por las condiciones de humedad del suelo asociadas a la precipitación.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Belalcázar D. J., Lemus L. H., Duran C. V. Especies forrajeras tropicales de interés para pasturas en suelos ácidos de Colombia. Cali: CIAT. 1995.
2. Chacón C. A. Evaluación de pasturas de *Brachiaria humidicola* sola y en asociación con *Desmodium ovalifolium*, en sistema de pastoreo rotativo, al norte del estado de Táchira. IX Seminario de pastos y forrajes. p 138-149. 2005.
3. CIAT. Agroecología y biodiversidad de las sabanas de los llanos orientales de Colombia. Rippstein G., Escobar G. y Motta F (Ed). Publicación N. 322, 302 p. 2001.
4. CIAT. Establecimiento y renovación de pasturas. Memorias VI Reunión del Comité asesor de la RIEPT. Veracruz, México 425 p.1988.
5. CIAT. Manejo y Utilización de Pasturas en Suelos Ácidos de Colombia. En: Unidades de Aprendizaje para la Capacitación en Tecnología de Producción de Pastos. 1994.
6. Cruz P. I., Hernández G. A., Enríquez Q. J., Mendoza P. Sergio I., Quero C. A., Bertín M. J. Desempeño agronómico de genotipos de *Brachiaria humidicola* (Rendle) Schweickt en el trópico húmedo de México. Rev. Fitotec. Mex., 34 (2): 123-131, 2011.
7. Ernst, O. Leguminosas como cultivo de cobertura. Informaciones Agronómicas del Cono Sur. N. 21. 9 p. 2004.
8. Faria M. J. Manejo de pastos y forrajes en la ganadería doble propósito. Universidad de Zulia. X Seminario de Pastos y Forrajes, p 1-9. 2006.
9. Franco Q. L., Calero D. Duran C. Manual de Establecimiento de Pasturas, Proyecto: Evaluación de tecnologías por métodos participativos para la implementación de sistemas ganaderos sostenibles en el norte del departamento del Valle del Cauca. Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT): Universidad Nacional de Colombia - Sede Palmira, 27 p. 2005.
10. Gómez B. C. Conocimiento local, diversidad biológica y desarrollo. En: J. Labrador-Moreno, M. Altieri (Eds) Agroecología y Desarrollo. Aproximación a los Fundamentos Agroecológicos para la Gestión Sustentable de Agrosistemas Mediterráneos. Univ. de Extremadura y Ediciones Mundi-Prensa, Cáceres, Madrid, p 49-64. 2001.
11. Instituto Geográfico Agustín Codazzi. Análisis geográficos N. 26. Neógeno y cuaternario del altiplano de Bogotá y sus alrededores. Thomas Van Der Hammen. Ed Científico, Bogotá. 2003
12. Jaramillo C. F. Crisis y transformaciones de la agricultura colombiana: 1990-2000. Banco de la República. Bogotá D.C. 2002.

13. Jiménez O. M., Granados L., Oliva J., Quiroz J., Barrón M. Calidad nutritiva de *Brachiaria humidicola* con fertilización orgánica e inorgánica en suelos ácidos. Archivos de Zootecnia, 59, (228). 2010.
14. Jorba M., Ninot J. M., Vallejo R. Las siembras en la revegetación de zonas afectadas por minería. Universidad de Barcelona. Rev Ingeopes, 166: 30-35. 2007.
15. Keller G. G., Maass B. L., Hanson J. Natural variation in *Brachiaria* and existing germplasm collections. En: *Brachiaria: biology, agronomy and improvement*. Miles, J.W.; Maass, B.L. & do Valle, C.B. (Eds.). Centro Internacional de Agricultura Tropical. Cali, Colombia. p 16. 1996.
16. Lascano C. E., Avila P., Quintero C. I., Toledo J. M. Atributos de una pastura de *Brachiaria dictyoneura* – *Desmodium ovalifolium* y su relación con la producción animal. Revista Pasturas Tropicales, 13, (2): 10-20. 1991.
17. Navarro G., H.; Pérez O. M.A.; Castillo G., F. Evaluación de cinco especies vegetales como cultivos de cobertura en valles altos de México. Revista Fitotecnia Mexicana. 30 (2): 151-157, 2007.
18. Martínez M. D., Hernández G. A., Enríquez Q. J. F., Pérez P. J., González M. S., Herrera H. J. G. Producción de forraje y componentes del rendimiento del pasto *Brachiaria humidicola* CIAT 6133 con diferente manejo de la defoliación. Rev. Téc Pecu Méx., 46 (4): 427-438. 2008.
19. Maya G. La gratuidad de la minería. Diario El Tiempo, 15 Abril 2012.
20. Olivera Y., Machado R., del Pozo P. Características botánicas y agronómicas de especies forrajeras importantes del género *Brachiaria* Pastos y Forrajes, 29 (1): 1-13. 2006.
21. Osorno H. H. Mitos y realidades de las cales y enmiendas en Colombia. Trabajo de grado para optar al título MSc Ciencias, geomorfología y suelos. Universidad Nacional de Colombia, p. 70. 2012.
22. Pérez B., R.; Rincón A.; Bueno G.; Vargas O.; Cuesta P. Alternativas de establecimiento de praderas. Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria, CORPOICA. Innovación y Cambio Tecnológico, 1 (2): 56-61. 2000.
23. Pérez M., Morillo M., Malpica L. Eficiencia de cuatro especies de *Centrosema* para utilizar fósforo de la roca fosfórica Riecito en suelos con diferentes capacidades de retención de fósforo. Rev. Zootecnia Tropical, 27 (3): 239-247. 2009.
24. Pérez L., O.; Pérez B. R. Informe final proyecto Evaluación agronómica y productiva de especies forrajeras en la Orinoquia Colombiana. CORPOICA. C.I. La Libertad. Villavicencio. Meta. 45 p. 2003.
25. Pérez B. R. A., Cuesta M. P. A. Especies Forrajeras para el Piedemonte Llanero. Manejo y Producción Animal. Pastos y Forrajes para Colombia. Suplemento Ganadero. ICA Banco Ganadero p 85-94. 1992.
26. Pulido C., S.X.; Jaramillo S., C.A.; Corredor M., M. Caracterización socioeconómica de las comunidades indígenas Wacoyo y Awaliba del Municipio de Puerto Gaitán, Meta. Disponibles En: <http://www.corpoica.org.co/SitioWeb/Archivos/oferta/CARACTERIZACIONESOCIOECONOMICA.pdf>

27. Ramírez J. L., Herrera R.S., Leonard I. Verdecia D., Álvarez Y. Rendimiento y calidad de la *Brachiaria decumbens* en suelo fluvisol del Valle del Cauto, Cuba. REDVET - Revista Electrónica de Veterinaria, 13 (4). 2012.
28. Rincón C. A. Degradación y Recuperación de Praderas en los Llanos Orientales de Colombia. Boletín Técnico N. 19. CORPOICA – PRONATTA. Villavicencio. Meta. Colombia. 48 p. 1999.
29. Rincón A.; Cuesta P.; Pérez R.; Bueno G.; Pardo O.; Gómez J. Manual técnico Producción y utilización de recursos forrajeros en sistemas de producción bovina de la Orinoquia y el Piedemonte Caqueteño. CORPOICA-FEDEGAN-MADR. Santafé de Bogotá. Colombia. 76 p. 2002.
30. Rincón C. A. Factores de degradación y tecnología de recuperación de praderas, Llanos orientales de Colombia. Boletín Técnico No. 49. Transferencia de tecnología CORPOICA C.I. La libertad. Editora Guadalupe LTDA, Segunda edición, 2006.
31. Rincón C. A. Efecto de alturas de corte sobre la producción de forraje de *Brachiaria sp.* en el piedemonte Llanero de Colombia. Revista Corpoica - Ciencia y Tecnología Agropecuaria, 12 (2): 107-112. 2011.
32. Rojas H. S., Olivares P. J., Jiménez G., Gutiérrez S. I., Avilés N. F. Producción de materia seca y componentes morfológicos de cuatro cultivares de *Brachiaria* en el trópico. Avances en Investigación Agropecuaria, 15 (1): 3-8. 2011.
33. Tormo B. J., Bochet S. E., García F. P. El estudio de los factores que limitan la colonización vegetal en estas áreas degradadas puede ayudar a mejorar las técnicas de revegetación. Revistas - Ecosistemas, 18 (2): 79-90. 2009.
34. Teasdale I, Devine T, Mosjidis J, Bellinder R., Beste C. Growth and development of hairy vetch cultivars in the Northeastern United States as influenced by planting and harvesting date. Agronomy Journal, 92:1266-1271. 2004.
35. Teasdale J. R. Principios y prácticas para el uso de cultivos de cobertura en el manejo de sistemas de malezas. In: Manejo de malezas para países en desarrollo (Addendum). R. Labrada (ed) FAO – ONU. 2004. Disponible En: <http://www.fao.org/3/y5031s/y5031s0j.htm>
36. Uribe F., Zuluaga A.F., Valencia L., Murgueitio E., Zapata A., Solarte L., et al. Establecimiento y manejo de sistemas silvopastoriles. Manual 1, Proyecto Ganadería Colombiana Sostenible. GEF, BANCO MUNDIAL, FEDEGAN, CIPAV, FONDO ACCION, TNC. Bogotá, Colombia. 78 p. 2011.
37. Vera R. R., Hoyos P., Ramírez G. *Stylosanthes capitata* en pasturas asociadas: Dinámica, persistencia y recuperación en los Llanos Orientales de Colombia. Revista Pasturas Tropicales, 19, (2): 21-34. 1997.
38. Zapata, F. FAO/IAEA research activities on direct application of phosphate rocks for sustainable crop production. En: S.S.S. Rajan y S.H. Chien, (Eds.). Direct application of phosphate rock and related technology: latest developments and practical experiences. Proc. Int. Meeting, Kuala Lumpur, 16-20. Muscle Shoals, USA, IFDC. 441 pp. 2003.