

Efecto del biocarbón en indicadores bioprodutivos y de salud de cerdos en crecimiento



<https://cu-id.com/2248/v46e16>

Effect of biochar on bioproduktive and health indicators of growing pigs

Les Alphonsus Jn. Baptiste², Alejandro Hernández González², Juan A Guzmán¹, Yanet Rodríguez¹, Rafael Lorenzo¹, Oscar Fernández¹, Eleuterio Hernández¹, Ernesto Vega Cañizares^{1,2*}

¹Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA), Apartado 10, CP 32700, San José de las Lajas, Mayabeque, Cuba.

²Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Agraria de La Habana "Fructuoso Rodríguez Pérez", Carretera Tapaste y Autopista Nacional, Km 23 ½, CP 32 700, San José de las Lajas, Mayabeque, Cuba.

RESUMEN: El experimento se realizó en el Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA), ubicado en Carretera de Jamaica y Autopista Nacional 23 km ½, municipio de San José de las Lajas, provincia Mayabeque. El objetivo de este experimento fue evaluar el efecto de dos niveles de biocarbón como aditivo en el alimento concentrado, sobre parámetros bioprodutivos, de salud, perfiles sanguíneos y bioquímicos en cerdos con 33 días de edad promedio. Los animales se dividieron en tres grupos de 10 cerdos. Los tratamientos utilizados fueron grupo control (sin adición de biocarbón), grupo dos (dieta con 1% biocarbón) y grupo tres (dieta con 5% biocarbón). El estudio duró 55 días durante los cuales cada grupo recibió la dieta asignada. Se tomaron muestras de sangre para analizar los perfiles sanguíneos y bioquímicos en tres momentos del experimento (día cero, 31 y 55 de tratamiento). El muestreo se realizó en los días: cero (momento inicial del experimento con animales de 33 días de edad promedio), 31 (Segundo muestreo) y 55 (tercer muestreo). Los resultados revelaron que el suplemento dietético con niveles de biochar al 1 y 5 % permitió un decrecimiento significativo de la ocurrencia de diarreas severas. La suplementación con biocarbón al 5 % tuvo un efecto favorable en la prevención y reducción de las diarreas, mientras que la suplementación con biocarbon al 1 y 5% disminuyó significativamente la presentación de diarrea intensa, sin influir significativamente en los parámetros bioprodutivos, hematológicos y bioquímicos.

Palabras clave: Biocarbón, aditivo, cerdos, salud.

ABSTRACT: The experiment was carried out at the National Center for Animal and Plant Health (CENSA), located at Carretera de Jamaica y Autopista Nacional, 23 km ½, San José de las Lajas municipality, Mayabeque province. This study was aimed at examining the effect of two biochar levels as an additive in concentrate feed on bioproduktive and health parameters and blood and biochemical profiles in pigs with an average age of 33 days.. Thirty animals, at 33 days of age with an initial weight of 7 kg, were divided into three homogeneous groups with 10 piglets respectively. The treatments used were the following: control group (without the addition of biochar), group two (diet with the addition of 1 % biochar) and group three (diet with the addition of 5 % biochar). Each group received one of the three diets for 55 days during the experiment. Blood samples were taken in three periods during the experiment (days zero, 31 and 55) to analyze blood and biochemical profiles. Sampling was carried out on day zero (initial moment of the experiment using animals with an average age of 33 days), day 31 of treatment (second sampling) and day 55 of treatment (third sampling). The results revealed that the dietary supply of biochar at levels of 1 % and 5 % significantly decreased the occurrence of severe diarrheas. The supply of biochar at 5 % level had a favorable effect in the prevention and reduction of diarrheas, while when using it at 1 and 5 % levels, it did not significantly influence the bioproduktive, hematological and biochemical parameters.

Key words: Biochar, additive, pigs, health.

INTRODUCCIÓN

Muchos factores amenazan a la producción porcina especialmente en la crianza de las categorías de cría y preceba (1). El destete es un momento muy estresante en la producción intensiva que provoca perturbaciones en la salud y desarrollo intestinal de los cerdos. Este evento estresante, frecuentemente se asocia con una severa depresión del crecimiento y presentación de diarrea (2, 3), que causan pérdidas económicas (4, 5).

Las diarreas presentan un desafío constante para productores de cerdos y debido a las restricciones implementadas sobre el uso de antibióticos (6) como aditivos a la dieta porcina (7). En los últimos años se han desarrollado estudios dirigidos al uso de aditivos alternativos al empleo de antibióticos en dietas porcinas para atenuar el impacto negativo en los animales, la generación de la resistencia antimicrobiana y reducir el impacto ambiental de las producciones ganaderas (8, 9).

*Correspondencia a: Ernesto Vega Cañizares. E-mail: evega@censa.edu.cu

Recibido: 25/02/2024

Aceptado: 08/10/2024

El biocarbón es un material procedente del pirólisis de una biomasa. Este material es altamente poroso lo que le da una gran superficie y capacidad de adsorber los metabolitos dañinos generados por microorganismos patogénicos y proporciona un hábitat para la microbiota (10). El biocarbón se ha utilizado como alternativa a los antibióticos (11). A lo largo de los años, se ha visto un marcado incremento del uso de biocarbón en el sector agropecuario por su versatilidad (12). De acuerdo con varios estudios, el biocarbón como aditivo en la dieta de porcinos tiene un efecto beneficioso en la prevención de infecciones entéricas, tratamiento de intoxicaciones por su capacidad de adsorción inespecífica, mejorar el perfil sanguíneo y el rendimiento bioproductivo (13, 14, 15).

Sin embargo, a pesar del creciente interés en investigaciones sobre el biocarbón como promotor de salud animal y crecimiento en los últimos años, existe todavía una brecha de conocimiento con respecto al empleo del biocarbón en el sistema animal (15). Con el objetivo de evaluar el efecto del biocarbón en indicadores bioproductivos y de salud en cerdos en crecimiento, se realizó el presente trabajo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Escenario de estudio

Se utilizaron las instalaciones del área de cerdo del Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA), ubicado en Carretera de Jamaica y Autopista Nacional 23 km ½, municipio de San José de las Lajas, Mayabeque. Las instalaciones están conformadas por una unidad cerrada, con filtro sanitario, ventilación por extractores de aire, alojamiento en Flat-Deck de piso plástico, agua mediante tetinas y alimentación restringida administrada en tolvas.

Duración del estudio

Comprendió los meses de septiembre y octubre del 2022. La duración fue de 55 días. El diseño experimental y procedimientos se aprobaron por el Comité de Ética del CENSA (16).

Diseño experimental

Se utilizaron 30 cerdos Yorkland (F-1 Yorkshire x Landrace) sin distinción de sexo, seleccionados al azar, destetados a los 33 días de edad promedio e identificados individualmente mediante muescas en las orejas. Los animales se alojaron en tres cubículos, a razón de 10 en cada uno. Durante el experimento los animales se inspeccionaron diariamente y se pesaron semanalmente. Se sacrificaron cinco animales de cada grupo a los 31 días y los restantes al finalizar el experimento (55 días).

Dieta

Se administró alimento concentrado para cerdos, en forma de harina, elaborado a base de maíz, trigo,

harina de pescado y soya, en el Centro Nacional para la Producción de Animales de Laboratorio (CENPALAB).

El biocarbón se obtuvo a partir de la especie vegetal *Lyisiloma latisiliquum* (Palo blanco), en el mes de febrero del año 2022 (Lote PER-05-21), por el procedimiento tradicional de hornos de carbón (17). Se almacenó a temperatura ambiente, en lugar seco y a la sombra, separado aproximadamente 10 cm del piso y de la pared.

Se conformaron tres grupos de animales, alimentados de la forma siguiente:

Grupo Control: Alimento concentrado (sin biocarbón)

Grupo Biocarbón 1%: Alimento concentrado más biocarbón 1% de la ración

Grupo Biocarbón 5%: Alimento concentrado más biocarbón 5% de la ración.

La alimentación se realizó según el Manual de procedimientos técnicos para la crianza porcina (MPTCP, 2016) y el agua se ofreció ad libitum. Cada grupo recibió 0,5 kg de alimento los primeros 21 días y 1 kg a partir de ese momento hasta finalizar la etapa de crecimiento (55 días). El biocarbón se incorporó como aditivo en forma de polvo finamente triturado en los animales destetados a los 33 días de edad promedio hasta finalizar la etapa de evaluación.

Indicadores bioproductivos

Con los resultados del pesaje individual inicial y semanal hasta los 31 días, se determinó el peso promedio por grupo, la ganancia media diaria y la conversión alimentaria, de la forma siguiente:

$$\text{Ganancia media diaria (g/día)} = \frac{\text{Peso vivo final} - \text{Peso vivo inicial}}{\text{duración de la etapa (días)}}$$

$$\text{Conversión alimentaria} = \frac{\text{Cantidad de alimento (Base fresca)}}{\text{Incremento de peso en la etapa}}$$

Indicadores de salud

Se evaluó el comportamiento clínico, para lo cual se realizó inspección clínica y registro de signos clínicos. En el caso de presentación de diarrea se determinó el grado o nivel de afectación: Diarrea leve (diarreas pastosas), diarrea moderada (diarreas semilíquidas), diarrea intensa (diarreas líquidas), duración del síndrome diarreico (días), así como la mortalidad y la morbilidad. Como criterio de exclusión en caso de síndrome diarreico severo (deshidratación, aumento de frecuencia respiratoria), se retira del experimento para recibir tratamiento sintomático.

Indicadores hematológicos

Se realizó extracción de sangre a partir del seno venoso oftálmico en tubos que contenían 85 µL de ácido etilendiamina tetraacético (EDTA) al 3% y tubos sin anticoagulante para la obtención de suero sanguíneo. El muestreo se realizó en tres momentos: momento cero o inicio (inicio del experimento, animales con 33 días de edad promedio), segundo muestreo (31 días de tratamiento) y tercer muestreo (55 días de tratamiento)

A partir de las muestras de sangre con anticoagulante se determinaron los parámetros hematológicos, indicadores de la serie roja: hematocrito (Ht), hemoglobina (Hb). Los indicadores de serie blanca utilizados fueron el conteo de leucocitos totales (LT) y diferencial sanguíneo (Neutrófilos (N), Linfocitos (L), Monocitos (M), Eosinófilos (E) y Basófilos (B)). En la serie plaquetaria se realizó el conteo de plaquetas. Todos los parámetros se determinaron en un Contador de Células MICROS ABX (Roche Diagnostic Systems) según POT IT EQ-06.127 y 05.24.001, exceptuando las células diferenciadas (POT 02.24.003) que se observaron mediante el microscopio Carl Zeiss (IT EQ-06.124).

Indicadores bioquímicos

A partir del suero sanguíneo se determinó: alanino amino transferasa (ALT), aspartato amino transferasa (AST), fosfatasa alcalina (FA), bilirrubina total (BT), proteínas totales (PT) y albúmina (ALB), en un analizador Automático Cobas Integra 400 PLUS (Roche Diagnostic Systems) (IT EQ.126). La concentración de globulinas se determinó mediante la fórmula siguiente: Proteínas totales (g/dL) = albúmina (g/dL) + globulinas (g/dL) (18).

Análisis estadístico

Para el estudio de los indicadores bioproductivos, hematológicos y bioquímicos se empleó la prueba no paramétrica Kruskal-Wallis, mediante el programa STATGRAPHICS Plus, Versión 5,0 para WINDOWS.

La existencia de diferencias estadísticas significativas en la presentación de signos clínicos, se determinó mediante un análisis de Comparación de Proporciones con la herramienta CompaProWin 2.0.1, 2014 (19).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

No se observaron diferencias significativas para el peso final, ganancia media diaria y conversión alimentaria entre los diferentes grupos (Tabla 1).

En las últimas décadas, un gran número de investigaciones se han centrado en el desarrollo de alternativas a los antibióticos para mantener la salud y el rendimiento de los cerdos (20). Los animales destetados presentan un estrés debido a cambios en las condiciones de manejo, tenencia y alimentación. Fohse y col. (21) y Gresse, y col., (22), refieren que el estrés asociado al destete temprano de los cerdos se conoce que está asociado a disturbios en la microbiota intestinal y su efecto negativo en las funciones gastrointestinales, de ahí que se considera la importancia de evaluar el efecto del biocarbón en esta etapa.

La prevalencia de diarrea en el presente estudio tuvo un mejor comportamiento con biocarbón 5%. A lo largo la duración del experimento, solo 4/10 animales (40%), presentaron diarrea, lo que difiere estadísticamente con respecto a los grupos uno y dos, con 10/10 (100%) y 8/10 (80%) de afectación por diarreas respectivamente, la comparación entre estos grupos no mostró diferencias significativas (Tabla 2). En consideración con estos resultados, la aplicación de biocarbón 5% como aditivo en el alimento concentrado tuvo un efecto preventivo en la aparición de diarreas post destete, la que reduce significativamente la prevalencia de diarrea.

En el presente estudio el comportamiento de la presentación de diarrea, mostró que las mismas comenzaron a partir del tercer día post destete, sin evidenciar homogeneidad en la frecuencia de presentación en los días posteriores al destete. Sin embargo; se observó tendencia a la disminución con el trascurso de los días (grupos control y biocarbón 1%), mientras que el grupo biocarbón 5%, mantuvo una tendencia estable con baja frecuencia de presentación de diarrea durante el tiempo estudiado.

Tabla 1. Resultados de diferentes niveles de biocarbón en la ración sobre los indicadores bioproductivos. / Results of different biochar levels on bioproductive indicators.

Grupos	Peso inicial (Kg ± DS)	Peso final (Kg ± DS)	GMD (g/día ± DS)	Conversión
Sin Biocarbón	7,4 ^a (0,61)	12,65 ^a (2,12)	169,35 ^a (62,8)	3,90 ^a
Biocarbón 1%	7,4 ^a (1,01)	11,77 ^a (1,48)	139,78 ^a (32,25)	4,73 ^a
Biocarbón 5%	7,4 ^a (0,45)	12,20 ^a (3,0)	154,83 ^a (93,18)	4,27 ^a

Letras diferentes en la misma columna difieren estadísticamente (p≤0,05).

Leyenda:

Número animales: 10 animales/grupo

GMD: Ganancia media diaria

Peso vivo promedio inicial: 33 días de edad

Peso vivo promedio final etapa: 64 días de edad.

El comportamiento observado se atribuyó al denominado síndrome post destete (23, 24, 25). Este representa una situación estresante que supone la separación brusca de la madre, lucha por el establecimiento del nuevo orden social, el transporte (22) y el cambio a una dieta sólida, en la mayoría de los casos de difícil digestibilidad para el animal en la que la grasa, la lactosa y la caseína de la leche son sustituidas por carbohidratos y proteínas complejas, en su mayoría de origen vegetal (26).

En lo que se refiere a los días promedios que los animales presentaron diarrea, en el presente estudio se encontró que los valores estuvieron entre los 6,3 y 7,6 días promedio. Estos valores no mostraron diferencias significativas entre los diferentes grupos estudiados (Tabla 3).

Otro aspecto importante en la evaluación clínica de los animales que presentan síndrome diarreico, es la severidad o gravedad del mismo, debido a que la presencia del síndrome diarreico constituye un riesgo potencial para la vida de los animales. Con relación a este aspecto se reconoce que la diarrea produce desajustes fisiopatológicos que involucran a todo el organismo y cuya gravedad depende de las pérdidas hidroelectrolíticas. Estas a su vez dependerán del tipo de diarrea entre otros aspectos (27).

En cuanto a este indicador los animales del grupo biocarbón 1% y grupo biocarbón 5% mostraron una disminución de la frecuencia de presentación de la diarrea intensa con respecto al grupo control. En lo que se refiere a la frecuencia de presentación de la diarrea leve y moderada no se encontraron diferencias estadísticas significativas entre los grupos estudiados, sin embargo, los grupos biocarbón 1% y biocarbón 5%, mostraron una tendencia a la disminución en este particular (Tabla 4). Se considera importante para futuros estudios evaluar la inclusión del biocarbón al 2 y 3% en la dieta de los cerdos, la que pudieran tener el mismo efecto positivo que la inclusión al 5%, con la ventaja del menor porcentaje de inclusión en la dieta (cantidad de biocarbón y un posible efecto positivo en el consumo de alimento concentrado entre otros aspectos).

En cuanto al indicador de mortalidad, no se encontró diferencias significativas entre los grupos evaluados. Se reportaron dos animales fallecidos, un animal en el grupo 1 y 2, respectivamente. El animal fallecido del grupo 1, presentaba signos clínicos digestivos (abdomen distendido), mientras que el animal fallecido en el grupo 2, presentaba signos clínicos respiratorios (disnea).

Tabla 2. Proporción de cerdos con diarrea suplementados con diferentes niveles de biocarbón en la ración durante 55 días. / Proportion of pigs with diarrhea supplemented with different biochar levels during 55 days.

Grupos	Total de animales	Animales con diarrea	Proporción
Sin Biocarbón	10	10	(10/10) 100 ^a
Biocarbón 1%	10	8	(8/10) 80 ^a
Biocarbón 5%	10	4	(4/10) 40 ^b

Proporciones con letras diferentes en la misma columna difieren estadísticamente para $p \leq 0,05$.

Leyenda:

Grupo 1: Alimento concentrado (sin Biocarbón). Animales: 1- 10

Grupo 2: Alimento concentrado (Biocarbón 1% de la ración). Animales: 11 - 20

Grupo 3: Alimento concentrado (Biocarbón 5% de la ración). Animales: 21 - 30

Duración del experimento 55 días.

Tabla 3. Duración de diarreas (días promedio) en cerdos de 33 días de edad tratados con niveles diferentes de biocarbón durante 55 días. / Duration of diarrheas (average days) in pigs of 33 days of age treated with different biochar levels during 55 days.

Grupos	Proporción	Media	Mínimo	Máximo	Rango
Sin Biocarbón	10/10	6,3 ^a	3	15	12
Biocarbón 1%	8/10	7,6 ^a	1	19	18
Biocarbón 5%	4/10	6,75 ^a	3	16	13

Letras diferentes indican diferencia significativa entre grupos para ($p \leq 0,05$).

Tabla 4. Severidad de la diarrea presentada en cerdos de 33 días de edad promedio tratados con diferentes niveles de biocarbón durante 55 días. / Severity of diarrheas in pigs of 33 days of age treated with different biochar levels during 55 days.

Grupos	Severidad de diarrea		
	Leve	moderada	Intensa
Sin Biocarbón	(5/10) ^a 50 %	(0/10) ^a	(5/10) ^a 50%
Biocarbón 1%	(7/10) ^a 70%	(0/10) ^a	(1/10) ^b 10%
Biocarbón 5%	(3/10) ^a 30%	(0/10) ^a	(1/10) ^b 10%

Proporciones con letras diferentes en la misma columna difieren estadísticamente para $p < 0,05$.

Leyenda:

Diarrea leve (diarreas pastosas)

Diarrea moderada (diarreas semilíquidas)

Diarrea intensa (diarreas líquidas)

Estos resultados pueden estar motivados por el efecto positivo del biocarbón sobre la absorción de toxinas, digestibilidad y eficiencia alimentaria entre otras. Se refiere la influencia positiva del biocarbón y vinagre, sobre la altura de las vellosidades duodenales que constituye un indicador de salud animal, aumentaron significativamente. (28), misma tasa de crecimiento en cerdos de la categoría zootécnica ceba que los tratados con antibióticos, sin los efectos secundarios negativos para el medio ambiente que pueden tener los antibióticos (29), reducción de la capacidad de absorción de aflatoxinas (30).

El estudio de los indicadores hemáticos constituye una herramienta fundamental para evaluar el estado de salud y respuesta a las diferentes enfermedades. De ahí que se ha planteado por diferentes autores la importancia del hemograma como criterio para evaluar el estado de salud de los animales. Según, (31), señala que la biometría hemática o hemograma, es una herramienta de gran utilidad en la clínica y constituye uno de los diagnósticos hemáticos básicos.

El análisis de la serie roja (Tabla 5), no mostró diferencias significativas entre grupos para el valor de hematocrito y hemoglobina. En este sentido, solo el grupo 3, muestreado a los 55 días evidenció valores de hematocrito dentro del rango de referencia fisiológico descrito para la especie porcina (32-50 L/L), referido por (32) y (33). Mientras los valores de hemoglobina de todos los grupos fueron inferiores a 10-16 g/dL, descritos para la especie porcina por los autores referidos con anterioridad.

Teniendo en cuenta que los valores de hematocrito y hemoglobina en los animales estudiados en todos los grupos y en los diferentes momentos son inferiores a

los valores de referencia, se puede plantear que son indicativos de un síndrome anémico.

Teniendo en consideración el valor de hematocrito y proteínas totales en la interpretación de la serie roja, se puede apreciar que, en el momento inicial del muestreo, aunque no se evidenciaron diferencias estadísticas entre los tres grupos, los mismos mostraron valores de hematocrito y proteínas totales inferiores a los valores referidos como fisiológicos, sin evidenciar signos de alteraciones respiratorias. Aspecto que pudiera indicar un posible déficit nutricional en estos animales. En los restantes muestreos (31 y 55 días), no se observó resultados con diferencias significativas.

La serie blanca no mostró diferencias estadísticas entre grupos para el conteo de leucocitos totales en el mismo momento de la toma de muestra, con excepción del segundo muestreo realizado a los 31 días, donde se observó diferencias significativas entre el grupo uno (control) y el grupo dos (biocarbón 1%) (Tabla 6).

Estos resultados requieren de un análisis de cada grupo y por animal para interpretar las alteraciones del cuadro leucocitario en base a los valores absolutos del diferencial sanguíneo. En este sentido, todos los grupos analizados se comportaron con valores de leucocitos totales dentro de rango referido para la especie en estudio, sin embargo, el grupo dos, evaluado a los 31 días además de mostrar diferencias estadísticas con respecto a los otros grupos como se indicó anteriormente, constituyó la excepción de este comportamiento al mostrar valores de leucocitos totales inferiores a los reportados como fisiológicos para la especie porcina por (32) y (33), con valores que evidenciaron leucopenia por neutropenia absoluta.

Tabla 5. Indicadores hematológicos de serie roja y proteínas totales en cerdos tratados con diferentes niveles de biocarbón en la dieta. / Hematological indicators of red blood count and total proteins in pigs treated with different biochar levels in the diet.

TOMA MUESTRA (DÍAS)	Grupos	Serie roja		Proteínas Totales (g/L)
		HT (L/L)	Hb (g/dL)	
		$\bar{x} \pm DS$	$\bar{x} \pm DS$	
Inicio	Sin Biocarbón	30,4±6,2 ^a	8,8± 1,8 ^a	55,4±3,8 ^a
	Biocarbón 1%	30,7±1,9 ^a	9,2± 0,6 ^a	57,2±4,1 ^a
	Biocarbón 5%	30,6±6,4 ^a	9,2± 2,0 ^a	59,2±5,1 ^a
31 días	Sin Biocarbón	30,4±5,3 ^a	9,2±1,6 ^a	55,2±4,3 ^b
	Biocarbón 1%	31,0±1,4 ^a	9,3±0,4 ^a	63,4±4,7 ^a
	Biocarbón 5%	30,6±7,3 ^a	9,2±2,2 ^a	64,8±5,8 ^a
55 días	Sin Biocarbón	29,3±5,9 ^a	8,8±1,8 ^a	63±3,8 ^a
	Biocarbón 1%	30,0±2,7 ^a	9,0±0,9 ^a	61±5,4 ^a
	Biocarbón 5%	32,4±3,3 ^a	9,7±1,0 ^a	61,6±1,7 ^a
Valores de referencia		32-50	10-16	60-90

Letras diferentes en la misma columna difieren estadísticamente entre grupos para cada parámetro en el mismo momento de la toma de muestra (días), para $p < 0,05$.

Leyenda: HT: hematocrito, Hb: hemoglobina.

Animales en crecimiento de 33 días de edad promedio al inicio.

Muestreo inicio: Grupo 1 (n=10), Grupo 2 (n=10), y Grupo 3 (n=10).

Muestreo 31 días: Grupo 1 (n=5), Grupo 2 (n=5) y Grupo 3 (n=5)

Muestreo 55 días: Grupo 1 (n=4), Grupo 2 (n=4), y Grupo 3 (n=5)

Valores de referencia (Jackson y Cockcroft, 2002; Nuñez y Bouda, 2007)

Tabla 6. Indicadores hematológicos de la serie blanca y plaquetas en cerdos tratados con diferentes niveles de biocarbón en la dieta. / Hematological indicators of white blood count and platelets in pigs treated with different biochar levels in the diet.

TOMA MUESTRA (DÍAS)	Grupos	Serie blanca (x10 ⁹ c/L)						Plaquetas (x10 ⁹ c/L)
		LT	N	L	M	E	B	
		$\bar{x} \pm DS$	$\bar{x} \pm DS$	$\bar{x} \pm DS$	$\bar{x} \pm DS$	$\bar{x} \pm DS$	$\bar{x} \pm DS$	
Inicio	Sin Biocarbón	12,3±3,3 ^a	3,2±1,0 ^a	8,8 2,4 ^a	0,1 ±0,1 ^a	0,1±0,2 ^a	0,0±0,0 ^a	296±66,0 ^a
	Biocarbón 1%	10,5±3,3 ^a	2,6±0,7 ^a	7,8±2,7 ^a	0,0 ±0,0 ^a	0,0±0,0 ^a	0,0±0,0 ^a	297±66 ^a
	Biocarbón 5%	11,7±2,1 ^a	3,0±0,6 ^a	8,3±1,5 ^a	0,1±0,10 ^a	0,1±0,1 ^a	0,0±0,0 ^a	307±46,6 ^a
31 días	Sin Biocarbón	14,0±3,2 ^a	3,8±0,7 ^a	10±2,6 ^a	0,1±0,1 ^a	0,1±0,1 ^a	0,0±0,0 ^a	332±114,8 ^a
	Biocarbón 1%	9,3±2,0 ^b	2,5±0,6 ^b	6,7±1,3 ^a	0,1±0,1 ^a	0,0±0,0 ^a	0,0±0,0 ^a	280 ±60,6 ^a
	Biocarbón 5%	12,2±1,6 ^{ab}	3,0±0,4 ^{ab}	8,8±1,1 ^a	0,1±0,1 ^a	0,0±0,0 ^a	0,0±0,0 ^a	296±47,2 ^a
55 días	Sin Biocarbón	12,1±4,7 ^a	3,3±1,4 ^a	8,5±3,2 ^a	0,1±0,1 ^a	0,2±0,3 ^a	0,0±0,0 ^a	250±52,3 ^a
	Biocarbón 1%	12,8±3,6 ^a	2,9±0,9 ^a	9,9±2,8 ^a	0,0±0,0 ^a	0,1±0,1 ^a	0,0±0,0 ^a	292,5±81,8 ^a
	Biocarbón 5%	11,3±2,7 ^a	2,9±0,6 ^a	7,9±1,8 ^a	0,1±0,1 ^a	0,1±0,1 ^a	0,1±0,1 ^a	312±53,1 ^a
Valores de Ref.		11-22	3-11	3-13	0,25-1,5	0,0-2,0	0,0-0,9	300-700

Letras diferentes en la misma columna difieren estadísticamente entre grupos para cada parámetro en el mismo momento de la toma de muestra (días), para p<0,05.

Leyenda:

Toma de muestra: Días de realizado el muestreo

LT: Leucocitos totales, N: neutrófilos, L: linfocitos, M: monocitos, E: eosinófilos, B: basófilos
Plaquetas c/L: células x litro.

Muestreo inicio: Grupo 1 (n=10), Grupo 2 (n=10), y Grupo 3 (n=10).

Muestreo 31 días: Grupo 1 (n=5), Grupo 2 (n=5) y Grupo 3 (n=5)

Muestreo 55 días: Grupo 1 (n=4), Grupo 2 (n=4), y Grupo 3 (n=5)

Valores de referencia (Jackson y Cockcroft, 2002; Nuñez y Bouda, 2007)

Este patrón leucocitario de leucopenia con disminución de los polimorfonucleares neutrófilos (neutropenia absoluta), pudiera estar motivado por varios factores. Se refiere que el mismo pudiera indicar o es compatible con un patrón inflamatorio (34, 35). Sin embargo, se describe que este patrón con frecuencia se caracteriza también por una linfopenia con eosinopenia (34), hallazgos no observados en el presente estudio, además de que no se observaron signos clínicos indicativos de alteración, aspecto que pudiera ser aclarado en base al estudio morfológico de las células en el extendido sanguíneo.

El recuento de plaquetas no mostró diferencias estadísticas entre los diferentes grupos estudiados, aunque los grupos uno y dos (muestreo inicial), grupos dos y tres (muestreo 31 días) y grupos uno y dos (muestreo 55 días), presentaron valores de plaquetas inferiores a los parámetros fisiológicos de referencia para cerdos por (32) y (33), sin mostrar signos clínicos indicativos de trastornos de la serie plaquetaria.

Teniendo en cuenta los resultados expuestos anteriormente, donde no se encontraron diferencias significativas en el recuento de leucocitos totales entre los grupos tratados con biocarbón, así como valores indicativos de leucocitosis, se puede considerar que la inclusión del biocarbón en la dieta no influyó en la serie blanca.

El análisis de las enzimas hepáticas ALT y AST, indicativas de daño celular no reveló diferencias estadísticas entre los diferentes grupos estudiados con respecto a cada momento de toma de muestra (Tabla 7). En este sentido los valores promedios de la enzima ALT de todos los grupos evaluados

en los diferentes momentos de toma de muestra se encontraron dentro de los valores fisiológicos referidos para la especie estudiada, mientras que los valores de AST de los tres grupos en el muestreo inicial, y del grupo 2 (muestreo 55 días), presentaron valores superiores a los referidos para cerdos por (32).

La enzima ALT no mostró diferencias entre los grupos como se señaló previamente, mientras que el análisis de la enzima AST, evidenció que los tres grupos en el muestreo inicial, y el grupo 2 (muestreo 55 días), presentaron valores superiores a los referidos como fisiológicos para cerdos (32), sin mostrar diferencias significativas entre los grupos tratados y control. Considerando que la AST, aunque indica daño o lesión del hepatocito es una enzima presente en otros órganos, unido al hecho de no observar un aumento de la enzima ALT, podemos plantear que el incremento de los valores de la enzima AST, no está relacionado a lesión o daño hepático.

La determinación del perfil metabólico de las enzimas relacionadas con las vías de excreción en la presente investigación, fosfatasa alcalina (FA) y bilirrubina total (BT), no mostraron diferencias estadísticas entre los diferentes grupos estudiados, con excepción del valor de BT, del grupo 3 (muestreo 31 días) **Tabla 7.**

Teniendo en cuenta que los valores de BT del grupo 3 (muestreo 31 días), son inferiores a los referidos para la especie, unido a que existen otros factores que pueden aumentar la concentración sérica de BT, así como el comportamiento de la FA, la aplicación del Biocarbón en la dieta no influyó en el comportamiento sérico de las enzimas relacionadas con las vías de excreción hepática.

Tabla 7. Indicadores bioquímicos en cerdos tratados con diferentes niveles de biocarbón en la dieta. / Biochemical indicators in pigs treated with different biochar levels in the diet.

Toma Muestra (Días)	Grupos	ALT (UI/L)	AST (UI/L)	FA (UI/L)	BT (mmol/L)	Glucosa (mmol/L)	PT (g/L)	Alb (g/L)	Ig (g/L)
		$\bar{x} \pm DS$	$\bar{x} \pm DS$	$\bar{x} \pm DS$	$\bar{x} \pm DS$	$\bar{x} \pm DS$	$\bar{x} \pm DS$	$\bar{x} \pm DS$	$\bar{x} \pm DS$
Inicio	Sin Biocarbón	36,7±9,5 ^a	55,8±20,1 ^a	102,1± 41 ^a	2,2±0,4 ^a	3,0±0,9 ^a	55,4±3,8 ^a	32,6±3,5 ^a	22,8±2,8 ^a
	Biocarbón 1%	39,7 ±11,3 ^a	53,2±29,6 ^a	120,2±50,8 ^a	2,6±0,4 ^a	2,9±1,1 ^a	57,2±4,1 ^a	35,3±3,4 ^a	21,9±2,9 ^a
	Biocarbón 5%	39,9±8,4 ^a	47,5±16,3 ^a	119±29,7 ^a	2,4±0,4 ^a	2,5±1 ^a	59,2±5,1 ^a	34,5±4,6 ^a	32,2±4,1 ^a
31 días	Sin Biocarbón	31,7±7,5 ^a	41,8±10 ^a	60±22 ^a	0,8±0,2 ^a	3,7±0,7 ^b	55,2±4,3 ^b	23,0±3,4 ^b	31,3±6,6 ^a
	Biocarbón 1%	27,4±6 ^a	33,8±8,4 ^a	67,8±27 ^a	1,1±0,3 ^a	5,7±0,6 ^a	63,4±4,7 ^a	32,1±2,6 ^a	33,3±3,6 ^a
	Biocarbón 5%	25,8±2,9 ^a	31,3±4,5 ^a	79,4±18,8 ^a	1,7±0,2 ^b	5,2±0,8 ^a	64,8±5,8 ^a	31,6±5,6 ^a	34,5±0,2 ^a
55 días	Sin Biocarbón	31,7±6,9 ^a	37,3±10,6 ^a	61±29,5 ^a	2,1±0,3 ^a	6,2±1,2 ^a	63±3,8 ^a	28,5±3,5 ^a	0,8±2,1 ^a
	Biocarbón 1%	30±3,5 ^a	47,4±31,4 ^a	72,5±18,9 ^a	2,1±0,4 ^a	5,6±1 ^a	61±5,4 ^a	29±5,6 ^a	32±2,4 ^a
	Biocarbón 5%	32,9±3 ^a	34,6±4,6 ^a	87,4±14,5 ^a	1,6±0,3 ^a	4,3±0,9 ^a	61,6±1,7 ^a	28,2±5 ^a	33,4±3,8 ^a
Valores de Ref.		25-55	15-45	10-60	2,8-3,4	3,6-4,2	60-90	36-45	---

Letras diferentes en la misma columna difieren estadísticamente entre grupos para cada parámetro en el mismo momento de la toma de muestra (días), para $p \leq 0,05$.

Leyenda: ALT: Alanino amino transferasa, AST: Aspartato amino transferasa, FA: fosfatasa alcalina, BT: bilirrubina total, PTL: proteínas totales, Alb: albúminas, Ig: Inmunoglobulinas.

Muestreo inicio: Grupo 1 (n=10), Grupo 2 (n=10), y Grupo 3 (n=10).

Muestreo 31 días: Grupo 1 (n=5), Grupo 2 (n=5) y Grupo 3 (n=5)

Muestreo 55 días: Grupo 1 (n=4), Grupo 2 (n=4), y Grupo 3 (n=5)

Valores de referencia (Jackson y Cockcroft, 2002; Nuñez y Bouda, 2007)

La evaluación de la función de síntesis del hígado, se realizó a través del estudio de la concentración de glucosa, proteínas totales y albúminas, con un comportamiento similar en cuanto a la comparación entre los grupos, sin mostrar diferencias significativas en el muestreo inicial y a los 55 días. Sin embargo, en el muestreo intermedio (31 días), el grupo 1, evidenció valores estadísticamente inferiores para los tres indicadores (glucosa, proteínas totales y albúminas) con respecto a los grupos tratados, los valores de proteínas totales plasmáticas y albúminas en este grupo resultaron inferiores a lo reportados para la especie porcina.

Estos resultados en su conjunto no coinciden con Chu (36), donde encontraron un efecto positivo en el grupo tratado con biocarbón, con incrementos en la concentración de proteínas, albúmina y colesterol en el plasma sanguíneo superior en este grupo. Además, el contenido de cortisol fue significativamente menor, lo que indicó una reducción susceptible al estrés.

Según, Alfonso (27), la concentración plasmática de proteínas en cualquier momento depende del balance hormonal, estado nutricional, equilibrio hídrico, así como de otros factores que puedan afectar el estado de salud. La disminución de las proteínas plasmáticas no suele expresar disminuciones significativas hasta que se haya producido una depleción proteica hística lo que suele acompañarse por la evidencia clínica de enflaquecimiento y merma de la condición corporal de los animales.

Como se refiere al abordar el análisis de serie roja, el análisis conjunto de valor de hematocrito y proteínas plasmáticas, tiene un gran valor diagnóstico (permite el diagnóstico diferencial de los síndromes

de serie roja y de las variaciones en las proteínas plasmáticas), en este sentido los resultados de las mismas en el grupo uno control, en el muestreo intermedio (31 días), pudieran indicar una menor eficiencia en el aprovechamiento de los nutrientes, o un posible déficit nutricional de este grupo con respecto a los grupos donde se aplicó el biocarbón, teniendo en cuenta también la relación de albúminas e inmunoglobulinas, donde se conoce que la albúmina es una proteína de fase aguda negativa debido a que sus niveles descienden ante una respuesta inflamatoria de fase aguda (37), se descarta la disminución de albúmina plasmática debida a un patrón inflamatorio agudo por el comportamiento observado de las inmunoglobulinas (Tabla 7).

Se considera que estos resultados no sustentan o explican en su totalidad la hipótesis de un posible efecto del biocarbón en la mejora de la eficiencia alimentaria descrito por varios autores (15, 36), debido a que este efecto solo se observó en el muestreo intermedio (31 días), sin evidenciar clínicamente un aumento de los indicadores bioproductivos en los grupos tratados, aspectos que serán profundizados a partir de estudios anatomopatológicos e histomorfométricos. Es necesario considerar que en el momento inicial, todos los animales comenzaron el experimento con un estado clínico similar condición sine qua non, sin embargo los mismos tenían anemia, aspectos de relevancia como un criterio de inclusión para futuros estudios. En base a estos resultados expuestos, se plantea que la aplicación de biocarbón no afectó la función de síntesis del hígado.

No se observaron diferencias estadísticas para la concentración de inmunoglobulinas (Tabla 7), hallazgo que, unido a los resultados del estudio de la serie blanca expuestos con anterioridad, donde no se encontraron diferencias en el recuento de leucocitos totales entre grupos, así como valores indicativos de leucocitosis en los grupos tratados, permiten plantear que la suplementación de la dieta con biocarbón no mostró un efecto inmunoestimulante.

Basado en los resultados descritos en diferentes publicaciones y de la presente investigación, la aplicación del Biocarbón como aditivo en la dieta de cerdos puede constituir una alternativa para mejorar el estado de salud y productividad de los cerdos en los diferentes sistemas de crianza porcina. La aplicación del biocarbón al 1 y 5% disminuyó significativamente la frecuencia de presentación de diarrea intensa en cerdos en crecimiento, sin influir en los indicadores bioproductivos de ganancia media diaria y conversión alimentaria. No influyó en el comportamiento de la serie roja y blanca de la sangre, así como en la concentración de las enzimas y metabolitos indicadores de lesión hepática, función excretora y de síntesis del hígado, por lo que se considera seguro para su uso como aditivo en el alimento de los cerdos.

AGRADECIMIENTOS

Hans-Peter Schmidt, (Ithaka Institute for Carbon Strategies, Arbaz, Valais, Switzerland), y Maira G Rodriguez (Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria), por su contribución en la conducción de este proyecto.

REFERENCIAS

1. Bessone F, Bessone G, Marini S, Conde M, Alustizai F, et al. Presence and characterization of Escherichia Coli virulence genes isolated from diseased pigs in the central region of Argentina. *Veterinary World* [en línea]. 2017; 10 (8). Disponible en: <<https://doi.org/10.14202/vetworl.2017.939-945>> [Consulta: 29 March 2023].
2. Ciro JA, López A, Parra J. The Probiotic Enterococcus Faecium Modifies the Intestinal Morphometric Parameters in Weaning Piglets. *Rev Facultad Nacional de Agronomía Medellín* [en línea]. 2016; 69 (1):7803-7811. Disponible en: <<https://doi.org/10.15446/rfna.v69n1.54748>> [Consulta: 20 August 2023].
3. Uddin MK, Hasan S, Mahmud MR, Peltoniemi O, Oliviero C. n-Feed Supplementation of Resin Acid-Enriched Composition Modulates Gut Microbiota, Improves Growth Performance, and Reduces Post-Weaning Diarrhea and Gut Inflammation in Piglets. *Animals : an open access journal from MDPI* [en línea]. 2021; 11 (9):2511. Disponible en: <<https://doi.org/10.3390/ani11092511>> [Consulta: 02 November 2023].
4. Vila J, Sáez López E, Johnson JR, Romling U, Cantón R, et al. Escherichia Coli: an old friend with new tidings. 2016. *FEMS Microbiology Reviews* [en línea]. 216; 40 (1). Disponible en: <<https://doi.org/10.1019/femsre/fuw005>> [Consulta: 29 March 2023].
5. Luppi A. Swine Enteric Colibacillosis: Diagnosis, Therapy And Antimicrobial Resistance. 2017 . Disponible en: <<http://porcinehealthmanagement.biomedcentral.com/counter/pdf/10.1186/s40813-017-0063-4.pdf>> [Consulta: 29 March 2023].
6. Hunter, PA, Dawson S, French GL, Goossens H, Hawkey PM, et al. Antimicrobial-resistant pathogens in animals and man: prescribing, practices and policies. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* [en línea]. 2010; 65 (1):3-17. Disponible en: <<https://doi.org/10.1093/jac/dkp433>> [Consulta: 29 September 2023].
7. Canibe N, Højberg O, Kongsted H, Vodolazska D, Lauridsen C, et al. Review on Preventive Measures to Reduce Post-Weaning Diarrhoea in Piglets. 2022. *Animals* [en línea]. 12. Disponible en: <<https://doi.org/10.3390/ani12192585>> [Consulta: 29 March 2023].
8. Albo GN. Probióticos y Aceites Esenciales en la Dieta de Lechones Destetados. 2020. Disponible en: <<http://www.sedici.unlp.edu.ar>> [Consulta: 29 March 2023].
9. Salami, AS, Luciano G, Biondi L, Priolo A. Sustainability of feeding plant by-products: A review of the implications for ruminant meat production. *Animal Feed Science and Technology*. 2019; 251 (1):37-55. Disponible en: <<https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2019.02.006>> [Consulta: 15 September 2023].
10. Zoon, M. Una Fuente de Carbon Vegetal para Favorecer la Salud Intestinal. 2019. Disponible en: <<http://www.nutr-news.com/una-fuente-de-carbon-vegetal-adeuada-favorece-la-salud-intestinal/>> [Consulta: 29 March 2023].
11. Hansen HH, Storm I, Sell, A. Effect of Biochar on in Vitro Rumen Methane Production. *Acta Agricultura Scandinavica, Section A- Animal Science*. 2013; 62 (4):305-309. Disponible en: <<https://doi.org/10.1080/09064702.2013.789548>> [Consulta: 02 November 2023].
12. Carbon Standards International. European Biochar Certificate (EBC)- Guidelines for a Sustainable Production of Biochar 2012.

2022. Frick, Switzerland. Version 10.3E 5th April, 2022. Disponible en: <<http://european-biochar.org>> [Consulta: 27 April 2023].
13. Lao EJ, Mbega ER. Biochar As a Feed Additive For Improving The Performance Of Farm Animals. *Malaysian Journal of Sustainable Agriculture*.2020;4(2):86-93. Disponible en: <<https://doi.org/10.26480/mjsa.02.2020.86.93>> [Consulta: 29 September 2023].
 14. Man KY, Chow KL, Man YB, Mo WY, Wong, M H. Use of biochar as feed supplements for animal farming. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*.2021;51(2):187-217.Disponible en: <<https://doi.org/10.1080/10643389.2020.1721980>> [Consulta: 15 September 2023].
 15. Schmidt H, Hagemann N, Draper K, Kammann C. The use of biochar in animal feeding. 2019. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6679646/#_ffn_sectitle> [Consulta: 28 March 2019].
 16. Comité de Ética del Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria, Cuba (CENSA).
 17. FAO. Métodos simples para fabricar carbón vegetal. 1982. Disponible en <https://www.fao.org/4/x5328s/X5328S00.htm#Contents>. Consultado junio de 2024.
 18. Lv G, An L, Sun X, Hu Y, Sun D. Pretreatment Albumin to Globulin Ratio Can Serve as a Prognostic Marker in Human Cancers: a Meta-analysis. *Clinica Chimica Acta*. 2018; 476:81-91. Disponible en: <<https://doi.org/10.1016/j.cca.2017.11.019>> [Consulta: 02 November 2023].
 19. Castillo Y, Miranda I. CompaPro: Sistema para la compración múltiple de proporciones. *Rev. Protección Veg*.2014; 29(3): 231-234.
 20. Thacker PA. Alternatives to antibiotics as growth promoters for use in swine production: a review. 2013. *J Anim Sci Biotech*. 4:35. doi:<https://doi.org/10.1186/2049-1891-4-35>.
 21. Fohse J, Zijlstra R, Willing B. The Role Of Gut Microbiota In The Health And Disease Of Pigs. 2016;6(3). Disponible en: <<http://doi.org/10.2527/af.2016-0031>> [Consulta: 23 March 2023].
 22. Gresse, R, Chaucheyras-durand F, Alain M, Van T, Forano E, et al. Gut Microbiota Dysbiosis in Postweaning Piglets: Understanding the Keys to Health. *Trends in Microbiology*. 2017;25 (10): 851-873. Disponible en: <<https://doi.org/10.1016/j.tim.2017.05.004>> [Consulta: 08 August 2023].
 23. Valdés GR, Díaz L. Enfermedades más comunes del sistema digestivo del cerdo. 2012. (Disponible en: <http://www.dominamos.com/contenidos/EkVIAAVkuZHYaTdArE.php>
 24. Fairbrother J M, Gyles C L. E. coli infections. In *Diseases of Swine*. 2006. Straw BE, Zimmerman JJ, D'Allaire S, Taylor DJ, eds. Iowa State University Press. Ames, Iowa, USA. 9th edition. Chapter 38, pp. 639-674.
 25. Fairbrother J M, Nadeau E. Colibacillosis. In *Infectious and Parasitic Diseases of Livestock*. Lefèvre PC, Blancou J, Chermette R, Uilenberg G, eds. Lavoisier. 2010 ; (2), Chapter 74: 917-945.
 26. Heo JM, Opapeju FO, Pluske JR, Kim JC, Hampson DJ, et al. Gastrointestinal health and function in weaned pigs: a review of feeding strategies to control post-weaning diarrhoea without using in-feed antimicrobial compounds. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*. 2013; 97 (2): 207-237. Disponible en: doi: <<https://doi.org/10.1111/j.1439-0396.2012.01284.x>> [Consulta: 06 September 2023].
 27. Alfonso O. Fisiopatología veterinaria.2006. Editorial Félix Valera.
 28. Mekbungwan A, Yamauchi K, Sakaida T. Intestinal villus histological alterations in piglets fed dietary charcoal powder including wood vinegar compound liquid. *Anatomia, Histologia, Embryologia*. 2004;33(1):11-16 DOI <https://doi.org/10.1111/j.1439-0264.2004.00501.x>.
 29. Chu GM, Kim JH, Kim HY, Ha JH, Jung MS, et al. Effects of bamboo charcoal on the growth performance, blood characteristics and noxious gas emission in fattening pigs. *Journal of Applied Animal Research*.2013b;41(1):48-55 DOI <https://doi.org/10.1080/09712119.2012.738219>.
 30. Kim KS, Kim Y, Park J, Yun W, Jang K. Effect of organic medicinal charcoal supplementation in finishing pig diets. *Korean Journal of Agricultural Science*.2017;44(1):50-59.Disponible en: <<http://doi.org/10.7744/kjoas.20170006>> [Consulta: 25 April 2023]. ISSN 2466-2410.
 31. Iglesias I. Análisis de sangre: hemograma. 2015. Disponible en: <http://www.amordemascota.com/> [Consulta: 27 febrero 2016].
 32. Nuñez L, Bouda Jan. Patología clínica Veterinaria.2017. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Nacional Autónoma de México.
 33. Jackson, P y Cockcroft, P. Clinical examination of farm animal. 2002.
 34. Anom. Eclinpath. Atlas.2023. Cornell University College of Veterinary Medicine. <https://eclinpath.com/atlas/>
 35. Bush, B. M. Interpretación de los análisis de laboratorio para clínicos de pequeños Animales.1999. Edición Española.

36. Chu GM, Jung CK, Kim HY, Ha JH, Kim JH, et al. Effects of bamboo charcoal and bamboo vinegar as antibiotic alternatives on growth performance, immune responses and fecal microflora population in fattening pigs. 2013a. *Animal Science Journal* 84:113–120 DOI <https://doi.org/10.1111/j.1740-0929.2012.01045.x>.
37. Gruys E, Toussaint MJM, Niewold TA, Koopmans SJ. Acute phase reaction and acute phase proteins. 2005; 6:1045-1056.

Conflicto de intereses: Los autores declaran que no existen conflicto de intereses.

Contribución de los autores: Les Alphonsus Jn. Baptiste: **Curación de datos, análisis formal, investigación, metodología, visualización, escritura - borrador original y redacción: revisión y edición.** Alejandro Hernández González: **Curación de datos, análisis formal, metodología, investigación, escritura - borrador original y redacción: revisión y edición.** Juan A Guzmán: **ejecución del experimento y curación de datos.** Yanet Rodríguez: **Metodología y administración del proyecto.** Rafael Lorenzo: **ejecución del experimento y curación de datos.** Oscar Fernández: **ejecución del experimento y curación de datos.** Eleuterio Hernández: **ejecución del experimento y curación de datos.** Ernesto Vega Cañizares: **orientación de la investigación, Conceptualización, metodología, administración de Proyecto supervisión, validación de resultados, redacción: revisión y edición.**

Este artículo se encuentra bajo licencia [Creative Commons Reconocimiento-NoComercial 4.0 Internacional \(CC BY-NC 4.0\)](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/)