

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO  
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS  
CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA



**“PROYECTO DE INVESTIGACIÓN”**

“Evaluación del efecto de los hongos shitakke (*Lentinula edodes*) como alternativa en la prevención de micotoxicosis en cobayos (*Cavia porcellus*)”

AUTOR: MICHAEL ANDRÈ MOLINA BARRIGA

TUTOR: CHRISTIAN ANDRÉS QUINTEROS FREIRE MVZ. Mg.

CEVALLOS – ECUADOR

2023

**A. PAGINAS PRELIMINARES**

CEVALLOS, 13 DE FEBRERO DEL 2023

**APROBACIÓN DEL TUTOR**

“Evaluación del efecto de los hongos shitakke (*Lentinula edodes*) como alternativa en la prevención de micotoxicosis en cobayos (*Cavia porcellus*)”

**REVISADO POR**

.....

CHRISTIAN ANDRÉS QUINTEROS FREIRE MVZ. MgS

**TUTOR**

## **AUTORÍA DEL TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR**

El suscrito, MOLINA BARRIGA MICHAEL ANDRÈ, portador de cédula de identidad número: 2300617442, libre y voluntariamente declaro que el Informe Final del Proyecto de investigación titulado: “Evaluación del efecto de los hongos shitakke (*Lentinula edodes*) como alternativa en la prevención de micotoxicosis en cobayos (*Cavia porcellus*)” es original, auténtico y personal. En la virtud, declaro que el contenido es de mi sola responsabilidad legal y académica, excepto donde se indican las fuentes de información consultadas.



.....

MICHAEL ANDRÈ MOLINA BARRIGA

## **DERECHOS DEL AUTOR**

Al presentar este Informe Final del Proyecto de Investigación titulado “Evaluación del efecto de los hongos shitakke (*Lentinula edodes*) como alternativa en la prevención de micotoxicosis en cobayos (*Cavia porcellus*)” como uno de los requisitos previos para la obtención del título de grado de Médico Veterinario, en la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Técnica de Ambato, autorizo a la Biblioteca de la Facultad, para que este documento esté disponible para su lectura, según las normas de la Universidad.

Estoy de acuerdo en que se realice cualquier copia de este Informe Final, dentro de las regulaciones de la Universidad, siempre y cuando esta reproducción no suponga una ganancia económica potencial.

Sin perjuicio de ejercer mi derecho de autor, autorizo a la Universidad Técnica de Ambato la publicación de este Informe Final, o de parte de él.



.....

**MICHAEL ANDRÈ MOLINA BARRIGA**

**APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE GRADO**

“Evaluación del efecto de los hongos shitakke (*Lentinula edodes*) como alternativa en la prevención de micotoxicosis en cobayos (*Cavia porcellus*)”

REVISADO POR:

.....

CHRISTIAN ANDRÉS QUINTEROS FREIRE MVZ. Mg.

TUTOR

FECHA

.....

15/03/2023

Ing. Patricio Núñez Torres, PhD

PRESIDENTE TRIBUNAL DE CALIFICACIÓN

.....

15/03/2023

Dr. Efraín Lozada Salcedo, Mg.

MIEMBRO DEL TRIBUNAL DE CALIFICACIÓN

.....

15/03/2023

Ing. Gonzalo Aragadvay, PhD

MIEMBRO DEL TRIBUNAL DE CALIFICACIÓN

## **Dedicatoria**

A mis queridos padres Eduardo Molina y Mónica Barriga que estuvieron apoyándome día tras día tanto con palabras de aliento y acciones, y a mis hermanos Gabriel y Jeremmy y mi hermana Gabriela que tanto a la distancia como a la cercanía fueron un gran apoyo en esta etapa de mi vida.

Desde el fondo de mi corazón muchas gracias.

## **Agradecimiento**

En primer lugar, quiero agradecer infinitamente a mi Dios que me ha permitido vivir hasta el día de hoy, cumplir esta meta y celebrarla junto a mis padres y hermanos, pero sabiendo que por más que escriba mil hojas con el corazón en la mano no podría terminar de agradecer lo suficiente por tu bondad, diré; infinitas gracias Señor.

Agradezco a cada uno de los docentes que conocí, pues fueron tanto obstáculos que me mostraron lo que es la frustración y la derrota que en un futuro me permitió sentir lo que es el placer del trabajo duro, como motivación que a pesar de estar decepcionados o molestos se daban un tiempo para aconsejar y regañar a sus estudiantes.

Al doctor Christian Quinteros que siempre que solicitaba su ayuda nunca me la negó a lo largo del desarrollo de la tesis y por enseñarme muchas de las pocas cosas que al día de hoy se.

Y, por último, agradecer a cada una de las personas que cuando estaba en angustia mostraron una sonrisa o partieron el pan conmigo, pues sepan que nada es coincidencia, y aunque no nos volvamos a ver en mucho tiempo o nunca, ayudaste a alguien como yo a llegar a escribir esta sección.

## ÍNDICE

A.	PAGINAS PRELIMINARES .....	ii
B.	CONTENIDOS .....	1
I.	MARCO TEÓRICO .....	1
1.1.	Antecedentes investigativos.....	1
1.1.2	Categorías fundamentales o marco conceptual .....	5
1.1.2.1.	Fuentes inmune-moduladoras.....	5
1.1.2.2	Micotoxinas .....	5
1.1.2.3	Cobayos (Cavia porcellus) .....	10
1.2.	Objetivos.....	11
1.2.1	Objetivo general:.....	11
1.2.2	Objetivos específicos: .....	11
1.3.	Hipótesis .....	11
II.	METODOLOGÍA .....	12
2.1	Ubicación del experimento. ....	12
2.2	Características del lugar.....	12
2.3	Equipos y materiales.....	12
2.4.	Factores en estudio.....	13
2.5.	Tratamientos .....	14
2.6.	Diseño experimental .....	15
2.7	Manejo del experimento .....	16
2.8	Variables respuesta .....	20
2.10	Procesamiento de la información.....	22
III.	RESULTADOS Y DISCUSION .....	23
3.1	Análisis y discusión de los resultados. ....	23
3.1.1	Resultados de las lesiones macroscópicas y microscópicas.....	23
3.1.2	Discusión de las lesiones macroscópicas y microscópicas .....	33
3.1.3	Resultado de los índices productivos .....	35
3.1.4	Discusión de los índices productivos. ....	41
3.2	Verificación de hipótesis .....	43
IV.	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES .....	44
4.1	Conclusiones.....	44
4.2.	Recomendaciones .....	44
C.	MATERIALES DE REFERENCIA.....	45
	BIBLIOGRAFIA.....	45
	ANEXOS.....	49

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1:</b> Características climáticas en santo domingo .....	12
<b>Tabla 2:</b> Tratamientos y repeticiones .....	15
<b>Tabla 3:</b> Tipos de micotoxinas que producen los hongos. ....	23
<b>Tabla 4:</b> pHomVar de los pesos iniciales entre tratamientos. ....	36
<b>Tabla 5:</b> Vrueba de Tukey y ANAVA de los pesos en los días 1, 14 y 21 .....	37
<b>Tabla 6:</b> Valores promedio de consumo de alimento total. ....	38
<b>Tabla 7:</b> Valores promedio de conversión alimenticia.....	39
<b>Tabla 8:</b> Valores de índice de morbilidad y mortalidad.....	40

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Línea de tiempo del tratamiento 1 .....	14
Figura 2: Línea de tiempo del tratamiento 2 .....	14
Figura 3: Línea de tiempo del tratamiento 3 .....	15
Figura 4: Frecuencia de lesiones en hígado (T1) .....	24
Figura 5: Frecuencia de lesiones en pulmón (T1).....	25
Figura 6: Frecuencia de lesiones en riñón (T1).....	25
Figura 7: Frecuencia de lesiones en bazo (T1).....	26
Figura 8: Frecuencia de lesiones en hígado (T2) .....	27
Figura 9: Frecuencia de lesiones en pulmón (T2).....	27
Figura 10: Frecuencia de lesiones en riñón (T2).....	28
Figura 11: Frecuencia de lesiones en bazo (T2).....	28
Figura 12: Frecuencia de lesiones en hígado (T3) .....	30
Figura 13: Frecuencia de lesiones en pulmón (T3).....	30
Figura 14: Frecuencia de lesiones en riñón (T3).....	31
Figura 15: Frecuencia de lesiones en bazo (T3).....	32
Figura 16 : Cobayos muertos durante los últimos 5 días .....	41

## RESUMEN

La ingestión de micotoxinas es un problema común en animales que reciben alimento almacenado, lo que perjudica su sistema inmune, hemodinámico, entre otros, y hasta disminuye la capacidad del animal de aprovechar el alimento y en peores casos producir la muerte, por ello en la actualidad llega a utilizarse varios métodos para prevenir o reducir el impacto. Un total de 120 cobayos macho de alrededor de entre 10 a 13 días de edad fueron distribuidos al azar para recibir 3 tipos de dieta (tratamientos) y se evaluaron variables como, consumo de alimento (CAT), ganancia de peso (GP), conversión alimenticia (CA), índice de mortalidad y morbilidad (IM y MO), además de necropsia y examen histopatológico. Las dietas responden a los siguientes tratamientos, T1; grupo control, 110g de alfalfa/animal/día+30g de pienso comercial/animal/día. T2; 110g de alfalfa/animal/día+30g de pienso comercial/animal/día+300mg de ácido ascórbico por cada 140g de alimento. T3; 110g de alfalfa/animal/día + 30 gr de pienso comercial/animal/día + 3% de hongos Shitakke (*Lentinula edodes*) del total del alimento. En cada tratamiento a las 18h00 se administró maíz contaminado (40 gr/día/animal) con micotoxinas (Zearalenona (ZEA), deoxinivalenol (DON) y fumonisinas B1 y B2 (FB1 y FB2)). La inclusión de hongos Shitakke (T3) mejoró significativamente variables como; GP, CTA, CA, IM y MO, así como el estado de los órganos a nivel macroscópica y microscópica en comparación con T1, mientras que con T2, la diferencia se presenta únicamente en el estado de los órganos. Lo que sugiere que la adición de *L. edodes* tiene un efecto positivo ante la ingestión de ZEA, DON, FB1 y FB2, mostrándose como una opción para prevenir en cierto grado los efectos de las micotoxinas.

**Palabras clave:** micotoxinas, hongos Shitakke, lesiones, parámetros productivos.

## **ABSTRACT**

The ingestion of mycotoxins is a common problem in animals that receive stored feed, which damages their immune and hemodynamic systems, among others, and even decreases the animal's capacity to take advantage of the feed and in worse cases causes death. Therefore, several methods are currently being used to prevent or reduce the impact. A total of 120 male guinea pigs of about 10 to 13 days of age were randomly distributed to receive 3 types of diet (treatments) and variables such as feed intake (CAT), weight gain (GP), feed conversion (CA), mortality and morbidity index (IMyMO), necropsy and histopathological examination were evaluated, mortality and morbidity index (MI y MO), as well as necropsy and histopathological examination. The diets respond to the following treatments, T1; control group, 110g alfalfa/animal/day+30g commercial feed/animal/day. T2; 110g alfalfa/animal/day+30g commercial feed/animal/day+300mg ascorbic acid per 140g feed. T3; 110g alfalfa/animal/day + 30g commercial feed/animal/day + 3% Shitakke mushrooms (*Lentinula edodes*) of the total feed. In each treatment at 18h00, corn contaminated (40 g/day/animal) with mycotoxins (Zearalenone (ZEA), deoxynivalenol (DON) and fumonisins B1 and B2 (FB1 and FB2) was administered. The inclusion of Shitakke fungi (T3) significantly improved variables such as GDP, ADC, CA, IMyMo, as well as the state of the organs at the macroscopic and microscopic level compared to T1, while with T2, the difference was only in the state of the organs This suggests that the addition of *L. edodes* has a positive effect on the ingestion of ZEA, DON, FB1 and FB2, showing itself as an option to prevent the effects of mycotoxins to a certain degree.

***Key words:*** *mycotoxins, Shitakke fungi, lesions, productive parameters.*

## B. CONTENIDOS

### I. MARCO TEÓRICO

#### 1.1. Antecedentes investigativos

Se han realizado una serie de investigaciones que ponen a prueba tanto a los hongos Shitakke como al ácido ascórbico, siendo este último una de las alternativas más usadas actualmente. En el caso de la vitamina C (**Uchio et al., 2019**) en su experimento con ratones que recibieron previamente una dosis de dexametasona, administró diez veces más la cantidad expresada en los requerimientos, arrojando como resultado una reducción significativa de la atrofia esplénica con niveles eficientes en IL-2, IL-12, IFN- $\gamma$ , mejorando incluso la proliferación de células T y la conversión de las mismas Th1 y Th2. De igual manera (**El-Senousey et al., 2018**) en su estudio con pollos de engorde, sometidos a estrés oxidativo con dexametasona, evaluó la suplementación dietética con vitamina C, que resultó en la disminución significativa de los niveles de expresión de ARNm de IL-1b, IL-6 e IFN-- $\gamma$  a nivel del bazo. Varias investigaciones describen los beneficios de uso de ácido ascórbico frente a una infección por micotoxinas, en una de ellas (**NETKE et al., 1997**) alimentó a cuyes con 25 mg de ácido ascórbico en donde se evidencia un aumento en los niveles de glutatión (GSH) pero con daños hepáticos observados en la necropsia y exámenes hepáticos con aumento de la ALT y AST, sin embargo, en otro grupo que se adicionó un total de 300 mg no se observaron reacciones agresivas en el hígado y los niveles de ALT y AST estuvieron cerca del rango .

Por otro lado, cabe mencionar que cuando se presenta alguna patología, los niveles de ácido ascórbico endógeno se van reduciendo, como en el estudio de (**Kechik & Sykes, 1979**) que evaluó el efecto de la coccidiosis intestinal (*Eimeria acervulina*) sobre las concentraciones vitamina C en el plasma sanguíneo y tejido en pollos; reportando que este patógeno disminuyó significativamente las concentraciones del mismo en el intestino delgado, el hígado, las glándulas suprarrenales y el plasma sanguíneo,

teniendo este último niveles de 1.323 mg/100 ml el día 0 y en el día 8 de infección descendiendo a valores de 0.44 mg/ 100ml. Y como consecuencia se producirán una cantidad de radicales libres que el organismo no podrá manejar.

Por lo antes mencionado, resulta útil la investigación de otros posibles compuestos capaces de mejorar la condición del animal por ello (**Vetvicka & Vetvickova, 2014**) en su investigación puso a prueba tanto el uso de vitamina C y  $\beta$ -glucanos individualmente y en conjunto, para lo cual sometió a ratones a bajas temperaturas y a una manipulación excesiva con el objetivo de estresar significativamente a los roedores, siendo los niveles de la vitamina C los menos representativos a excepción de la función fagocitaria, mientras que los  $\beta$ -glucanos mostraron mejores niveles de IL-6 e IL-12 y IFN- $\gamma$ .

Por tal motivo cabe mencionar que se hizo uso de hongos Shitakke (*L. edodes*) al ser la fuente de  $\beta$ - glucanos de interés, pues (**Jung et al., 2012**) en su investigación, sometió a ratones a una infección bacteriana por *Bordetella bronchiceptica*, en donde alimentó a los mismos con un 3% de hongos Shitakke (*L. edodes*) dando como resultado un aumento en los niveles de linfocitos CD4+ y CD8+, IFN- $\gamma$  e interleuquinas ; el mismo autor sugiere que la ingestión continua del hongo o derivados podrían mejorar la inmunidad del huésped y aumentar la resistencia contra infecciones. Por otro lado, a nivel in vitro (**Casaril et al., 2011**) evaluó la actividad antimicrobiana de un extracto acuoso aislado de *Lentinula edodes* cultivado en aserrín humectado con extractos de eucalipto y te de mate, los mismos que fueron capaces de inhibir tanto el *Bacillus subtilis* como la *Escherichia coli* K-12.

Es también importante señalar el impacto nutricional que el hongo genera en el organismo, por ello (**Soroko et al., 2022**) en su estudio, administró en equinos durante 5 meses 60 gramos de hongo Shitakke, con el objetivo de evaluar niveles enzimáticos y valores hematológicos, reportando aumento en los niveles de células de la línea blanca, linfocitos, hematocrito y hemoglobina, además de la reducción en los niveles de bilirrubina y fosfatasa alcalina, triglicéridos, llegando a influir incluso en los

macroelementos provocando una disminución en los niveles de Na y aumento en los de Ca. Profundizando en este aspecto **(Regula & Siwulski, 2007)** en su investigación, reporta que los hongos Shitakke deshidratados poseen altos contenidos de proteína, fibra dietética total, K, Mg, Zn, Fe y Cu con bajos contenidos de grasa y Na concluyendo que estos podrían usarse tranquilamente como un buen aditivo nutricional.

Aparte de conocer la capacidad inmunoestimulante y nutricional del hongo es importante revisar su desempeño como fuente antioxidante, para ello **(Afiati et al., 2019)** comparó dos extractos de  $\beta$  - glucanos obtenidos a partir de hongos Shitakke (*L. edodes*) y de la levadura *Saccharomyces cerevisiae*, en donde por medio de una prueba denominada 1,1-difenil 2-picrilhidrazilo útil en las evaluaciones de radicales libres, determinó que el extracto de  $\beta$ -glucanos de los hongos Shitakke puede llegar a inhibir los procesos de oxidación en un 50%, mientras que en un estudio donde se administraron polisacáridos de *L. edodes* por vía oral durante 40 días se reporta una disminución del estrés oxidativo inducido por una dieta rica en grasas en donde al final llegan a suponer que el efecto farmacológico de los polisacáridos del hongo se debe a que en parte son capaces de estimular la expresión de genes que codifican enzimas antioxidantes **(Xu et al., 2008)**.

Por último, hay que resaltar su actividad antiinflamatoria: esta fue puesta a prueba por **(Campuzano & Carpio, 2020)** en donde para probar la capacidad que este tiene se suministró oralmente extractos de hongo Shitakke de diferente naturaleza tanto acuoso a dosis de 500 y 1000  $\mu$ l y etanólico a dosis similares, para luego inyectar 15  $\mu$ l de xileno en las orejas de ratones con la intención de provocar inflamación y edema local, siendo, el extracto acuoso a una dosis inferior, eficiente en su efecto como el de la dexametasona ( grupo control) y muy superior al extracto acuoso a dosis alta , para corroborar este experimento, las orejas fueron pesadas post-mortem siendo que, las orejas tratadas con dexametasona en el grupo control, tuvieron pesos promedios de 2.2 mg, y las orejas de los ratones que fueron tratadas con el extracto acuso de 500 $\mu$ l,

registraron pesos promedios de 5.96mg, a comparación de los otros tratamientos que tuvieron resultados de entre 23 y 35 mg de peso.

Profundizando en la capacidad antiinflamatoria del hongo (**H. Chen et al., 2012**) purificó con éxito tres polisacáridos homogéneos de LEPA1, LEPB1 y LEPC1 los mismos que fueron puestos a prueba a diferentes concentraciones (0.25, 0.5, 1, 2 y 4 mg/ml) con el fin de evaluar sus actividades antioxidantes in vitro mediante la interpretación de ensayos de eliminación de radicales hidroxilo (EERH), ensayos de eliminación de radicales superóxido (EERS) y ensayo de efectos quelantes en Fe<sup>2+</sup> (EQ) en donde descubrieron que los hongos presentaban diferentes capacidades antioxidantes siendo este dependiente de la dosis. Por otro lado (**Morales et al., 2020**) evaluó diferentes capacidades de los β-glucanos extraídos del hongos Shitakke, en donde al final se expone que los glucanos aislados fueron capaces de inhibir la HMGCR (-hydroxy-3-methylglutaryl coenzima A reductasa) in vitro y por lo tanto, podrían perjudicar la vía biosintética del colesterol; también mostraron actividades inmunomoduladoras aunque no indujeron variaciones significativas en la secreción de TNFα por parte de las células THP- 1/M activadas por LPS, consiguiendo disminuir la secreción de IL-1β e IL-6, de igual manera esta sustancia mostró tener efectos citotóxicos hacia las células mamarias tumorales pero no interfirieron en el crecimiento de las células mamarias normales.

Reforzando lo antes mencionado hay que señalar que una de las posibles razones por las que estos hongos son tan beneficiosos fue descrita por (**Liu et al., 2020**) al lograr aislar nanopartículas similares a los exosomas (ELNs) derivadas de los hongos, demostrando que poseen una fuerte actividad antiinflamatoria además de bloquear la formación del inflamasoma NLRP3 e inhibir los eventos posteriores a la activación de los mismos, como la secreción de citoquinas, la autodestrucción de Casp1y la muerte celular frente a un daño hepático inducido por D- galactosamina y lipopolisacáridos en ratones.

## 1.1.2 Categorías fundamentales o marco conceptual

### 1.1.2.1. Fuentes inmune-moduladoras.

- **Vitamina C (ácido ascórbico)**

El ácido ascórbico es una vitamina de naturaleza hidrosoluble sintetizada a partir de la glucosa en varias especies a excepción del cobayo, ratones y humanos por una deficiencia genética de la enzima L – gulonolactona oxidasa, la cual es la responsable de la síntesis de esta vitamina. Por otro lado, esta sustancia tiene notables propiedades antioxidantes debido a su capacidad para donar electrones protegiendo la integridad de muchas células, incluidos los linfocitos contra el daño de radicales libres generados en respuesta a una infección o toxinas (**Shojadoost et al., 2021**).

- **Hongos Shitakke**

El hongo Shitakke (*Lentinula edodes*) es un macrohongo basidiomiceto caracterizado por su alto valor nutricional, propiedades medicinales y funcionales, atribuidos a sus especiales polisacáridos;  $\beta$  – glucanos como el lentinano, sustancia que se ha probado tiene efectos anticancerígenos, antiinflamatorios e inmunomoduladores. Sin embargo, también destacan sus propiedades antidiabéticas e hipo-colesterolémicas mediadas por la presencia de eritadenina y quitina por su capacidad antioxidante, hemostática y antimicrobial. (**Rivera et al., 2017**)

### 1.1.2.2 Micotoxinas

Las micotoxinas son metabolitos secundarios producidos en forma natural por algunos hongos filamentosos, las cuales se consideran sustancias tóxicas para humanos y animales cuando están presentes en los alimentos. Estos compuestos se encuentran frecuentemente en productos tales como nueces, maíz, arroz y varios otros cereales,

los cuales pueden contaminarse durante la cosecha, en el transporte o almacenamiento produciendo en los animales toxicidad aguda o crónica, siendo los ganglios linfáticos y el intestino delgado las estructuras más comúnmente afectadas en cuyes, causando pérdida de peso, diarrea he incluso la muerte (**Mavrommatis et al., 2021**).

Por otro lado, cabe mencionar que las micotoxinas del alimento son capaces de inducir varios desequilibrios a nivel celular lo que produce aumentos en la concentración de ROS que llegan a exceder la capacidad antioxidante de la célula lo que resulta en problemas de salud agudo o crónico en los animales como el aumento de la peroxidación de lípidos, daño de proteínas y muerte celular (**Da Silva et al., 2018**), siendo la per oxidación lipídica un factor preocupante, pues según (**Darwish, 2019**) este efecto metabólico desencadenado por el daño oxidativo de las micotoxinas, se considera el principal mecanismo que conduce a la posterior hepatotoxicidad que resulta en la lesión de las células hepáticas.

Estos metabolitos son producidos por diferentes especies de hongos patógenos entre los que destacan *Aspergillus* sp, *Penicillium* sp y *Fusarium* sp, siendo esta última uno de los mayores problemas en los animales de granja, en especial aquellos que son alimentados con maíz. (**Gelderblom et al., 1994**).

### **Fusarium**

Las especies de *Fusarium* son los hongos productores de toxinas que se encuentran con mayor frecuencia y están ampliamente distribuidos en los climas septentrionales de América, Europa y Asia. (**Kim et al., 2014**). Siendo uno de los hongos patógenos más problemáticos, teniendo efectos negativos en cuyes como lo reporta (**Rodríguez, 2014**) en su investigación, mencionando que a nivel productivo este hongo reduce la ganancia de peso del cobayo, pues durante las primeras 3 semanas a una dosis alta los animales alcanzaron una ganancia de peso promedio de 36,25 g, valor muy inferior al del grupo testigo que obtuvo una ganancia de peso promedio de 179,4 g a

la tercera semana. Al perjudicar la ganancia de peso también compromete la conversión alimenticia obteniendo valores promedio de 5.1 en dosis bajas y de 5.7 en dosis altas.

Por otro lado, en cuanto a las lesiones que pueden presentarse ante la ingestión de este patógeno (**Rodríguez, 2014**) reporta hígados congestionados y con puntos blancos, a nivel de pulmón resalta la presencia de abundantes focos hemorrágicos, además de edemas, evidenciando también bazo de coloración oscura, además de atrofia esplénica, mientras que en caso del riñón reporta que en su corteza se podían observar zonas de color opaco.

Este hongo llega a producir varios tipos de micotoxinas, siendo más peligrosas para los animales de granja la fumonisina, el deoxinivalenol (DON) y la ZEA (**Kim et al., 2014**):.

### **Fumonisina**

La fumonisina son una micotoxina producida por *Fusarium moniliforme* y *Fusarium proliferatum* y es un contaminante natural de los piensos, la Unión Europea (UE) ha establecido un límite máximo de concentración de 4000 ppb en el maíz crudo. Esta micotoxina tiene tres subtipos, B1 (FB1), B2 (FB2) y B3 (FB3), que varían en su estructura química y también en cierta medida en su grado de toxicidad encontrándose principalmente en la alimentación de las aves de corral (**Kim et al., 2014**).

### **Patología**

En los animales de granja, la fumonisina B1 (FB1) es la causante de enfermedades como la leucoencefalomalacia equina y el edema pulmonar porcino, además, cuando se expone a los cerdos; la FB1 se asocia con el desarrollo de trastornos como el edema pulmonar y la insuficiencia hepática (**Walter, 1995**). En el caso de las aves el FB1 provoca una reducción del consumo de alimento, reducción en la producción de

huevos y del peso corporal en las aves de corral, al tiempo que causa trastornos como la necrosis hepática y la atrofia cortical tímica (**Prathapkumar et al., 1997**).

El ganado vacuno y las aves de corral tienden a ser muy resistentes pero especies de laboratorio como los roedores llegan a ser extremadamente sensibles a los efectos nefrotóxicos de las fumonisinas, pues en dietas proporcionadas durante 90 días a ratas macho que contenían 9 ppm de FB1 se indujo apoptosis renal, siendo los conejos otra especie sensible a dichos efectos renales, sin embargo, hay que mencionar que en ratones se llegan a presentar lesiones renales sólo a concentraciones de exposición elevadas pues se han obtenido resultados positivos de carcinogenicidad en tres bioensayos crónicos (2 años o más) de FB1 en roedores y en cada caso se indujeron tumores de riñón o hígado cuando el FB1 en la dieta era de 50 ppm, aunque el órgano diana difería según la especie, la cepa y el sexo de los animales (**Haschek & Voss, 2013**)

Los principales órganos diana en roedores y conejos son el hígado y el riñón. La patología se ha descrito como "hepatopatía" o "hepatosis" y "nefropatía" o "nefrosis", y es similar en animales a los que se administra fumonisina B1 purificada, material de cultivo (maíz infectado con un único hongo aislado y luego moldeado en condiciones controladas de laboratorio) o maíz contaminado naturalmente con fumonisinas (**Haschek & Voss, 2013**).

Siendo que según (**Z. Chen et al., 2022**) a partir de la segunda semana, ya se pueden observar cambios patológicos en el hígado de las ratas entre los que destaca la infiltración de células inflamatorias dispersas alrededor de la zona del colector y un pequeño número de hepatocitos empezó a presentar necrosis mientras avanzaba el tiempo y aumentaba la dosis, pues a partir de la 4ta a 8va semana se reportaron hepatocitos con degeneración vacuolar y necrosis detritica hasta necro inflamación, incluyendo necrosis e inflamación periportal, necrosis e inflamación intralobular e inflamación portal.

## **Zearalenona (ZEA)**

La ZEA es una micotoxina estrogénica producida por especies de *Fusarium*. La ZEA contiene lactona de ácido resorcílico no esteroideo, que imita la actividad del estradiol-17 $\beta$ . El límite de concentración de la UE para la ZEA es de 100 ppb en el maíz crudo y de 20 ppb en los productos de cereales (**Alshannaq & Yu, 2017**).

Se ha informado de que la ZEA provoca enfermedades relacionadas con la infertilidad en los cerdos pues se ha reportado casos en la que se llegan a desarrollar prolapsos vaginales y rectales, abortos y menores tasas de preñez, y a concentraciones excesivas de ZEA se pueden desencadenar síntomas de hiperestrogenismo (Etienne & Dourmad, 1994), pues,  $\alpha$ -zearalenol (ZOL) y el  $\beta$ -ZOL que son análogos de la ZEA se metabolizan y producen en el hígado y su metabolismo de síntesis es similar a la reacción durante la producción e inactivación de las hormonas esteroideas, ya que es causada por la misma enzima deshidrogenasa. (**Zahra et al., 2019**).

Por otro lado (**NTP, 1982** citado por **EFSA, 2011**) describe en su investigación que, a parte de la aparición de lesiones no neoplásicas, como inflamación de la próstata, atrofia testicular, quistes o conductos quísticos en las glándulas mamarias de los machos, hubo una mayor incidencia de vacuolización citoplasmática hepatocelular y mayor riesgo de nefropatía crónica progresiva en animales de ambos sexos. Mientras que (**Ropejko & Twarużek, 2021**) señala que otro de los principales efectos perjudiciales de esta micotoxina es su acción hematotóxica llegando a alterar la coagulación sanguínea y modificar los parámetros sanguíneos, pues (**Maaroufi et al., 1996**) en su estudio realizado en ratas, observó un aumento en el hematocrito y el índice MCV (volumen corpuscular medio), mientras que el número de glóbulos rojos se mantuvo sin cambios y el número de plaquetas disminuyó significativamente mostrando que mientras más alta la dosis de ingestión el número de plaquetas disminuye considerablemente.

## **Deoxynivalenol (DON)**

El DON, que también tiene una función estrogénica, es otra micotoxina producida por una especie de *Fusarium* perteneciente al grupo de los tricotecenos y es químicamente estable, por lo que no se elimina fácilmente durante el procesamiento de alimentos o piensos. Siendo que más de la mitad del DON ingerido puede recuperarse en la orina (**Zahra et al., 2019**).

## **Patología**

A nivel intestinal el DON llega a inhibir la función de barrera en el epitelio intestinal porcino al regular la expresión de las proteínas de unión estrecha (**Schoevers et al., 2010**) y en pollos que consumen alimentos contaminados con DON llegan a perder peso corporal y peso del hígado, pues piensos contaminados con DON a una concentración de 10 mg/kg reducen la ingesta y la eficiencia alimentaria en los pollos de engorde (**He et al., 2002**). Y en roedores (**Iverson et al., 1995**) en su estudio concluye que esta micotoxina a diferencia de las antes descritas muestra una reducción en el desarrollo de lesiones preneoplásicas y lesiones neoplásicas en el hígado, pero que posee una gran capacidad para disminuir la eficiencia de conversión del alimento y provocar reducciones significativas en el peso corporal de los roedores así como la disminución del consumo de alimento de los animales, pues en ratones intoxicados con DON, el grupo control llega a consumir 4.30 g de alimento mientras que los ratones alimentados con 5 ppm de deoxilivalenol su consumo se redujo a 4.05 g y aquellos que recibieron mayor cantidad (10 ppm) consumieron 3.95 g de alimento total.

### **1.1.2.3 Cobayo (*Cavia porcellus*)**

El cobayo es una especie de roedor de la familia Caviidae originaria de Perú y Bolivia, situada en la región andina de América del Sur, pudiendo alcanzar un peso de hasta 1 kg, son animales herbívoros, por lo que el aporte de fibra en el alimento es

indispensable. En cuanto a su morfología, su cuerpo es ancho y está cubierto de pelos que pueden ser lacios o erizados, su cabeza es ancha y grande en comparación al cuerpo y sus orejas son pequeñas y redondeadas, tiene patas cortas terminadas en finos dedos, cuyo número es variable (López, 2016).

## **1.2. Objetivos**

### **1.2.1 Objetivo general:**

Evaluar el efecto de los hongos Shitakke (*L. edodes*) como alternativa en la prevención de micotoxicosis en cobayos (*Cavia porcellus*).

### **1.2.2 Objetivos específicos:**

- Determinar el efecto de la inclusión del 3% de hongos Shitakke en la dieta como preventivo de micotoxicosis en cobayos.
- Describir las lesiones macroscópicas en hígado, riñón, pulmón, bazo y microscópicas en hígado producido por micotoxicosis
- Evaluar los índices productivos de los cobayos a los que se les administró hongos Shitakke (*L. edodes*) en la dieta como preventivo de micotoxicosis.

## **1.3. Hipótesis**

La inclusión de un 3% de hongos Shitakke (*L. edodes*) a la dieta es capaz de prevenir los efectos perjudiciales de la micotoxicosis en cobayos.

## II. METODOLOGÍA

### 2.1 Ubicación del experimento.

Las pruebas se llevaron a cabo en la ciudad de Santo Domingo de los Tsáchilas, cantón Santo Domingo de los Colorados en la parroquia Rio Verde, dirección calle Luis Felipe Borja y calle Cesar Dávila con las siguientes coordenadas: 0°15'43"570°10'40"W.

### 2.2 Características del lugar.

La experimentación se llevó a cabo en un sector urbano, bajo techo, el mismo que se ubicó en una zona climática lluviosa subtropical, siendo sus características climáticas expuestas en la Tabla 1.

**Tabla 1:**

*Características climáticas en Santo Domingo*

Parámetro	Temperatura, °C	Altura, msnm	Precipitación, mm anuales
	22.9	655	3000 a 4000

Fuente: (GAD Santo Domingo, 2017)

### 2.3 Equipos y materiales.

#### **Materiales de campo**

- Guantes de examinación
- Balanza.
- Bomba de mochila de aspersion manual.
- Caja de bisturí
- Vasos plásticos estériles

## **Reactivos**

- Ácido ascórbico en polvo
- Ivermectina 1%
- Formol al 10%
- 1 galón de agua destilada

## **Recursos biológicos**

- Cobayos destetados (10-13 días de edad)
- Alfalfa (*Medicago sativa*)
- Maíz (*Zea mays*)
- Balanceado de crecimiento para cobayos
- Hongos Shitakke (*Lentinula edodes*)

## **Material de escritorio**

- Computadora
- Impresora
- Esferográficos
- Marcadores permanentes
- Hojas de papel bond
- Libreta de anotaciones
- Tablas de registro
- Cámara fotográfica

## **2.4. Factores en estudio**

Grado de afección macroscópica y microscópica resultado de la infección por ingestión de micotoxinas en cobayos alimentados con hongos Shitakke.

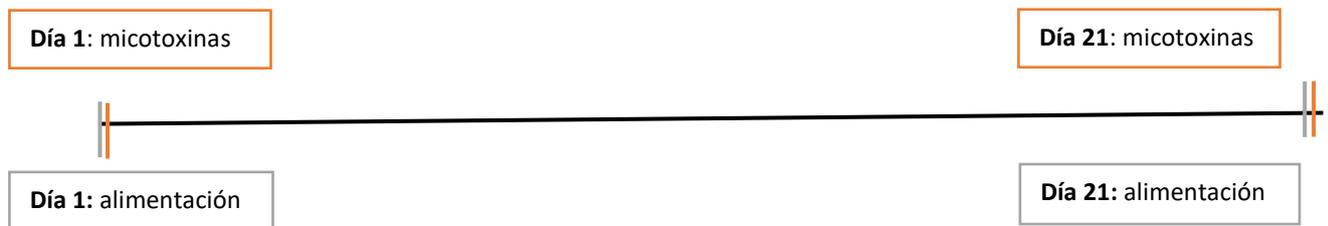
## 2.5. Tratamientos

### Tratamiento # 1

Día 1 a 21: dieta base: 110 gr de alfalfa/animal/día + 30 gr de balanceado comercial/animal/día a las 11H00. A las 18H00 se administró maíz contaminado con micotoxinas 40g/ día/ animal).

#### Figura 1:

*Línea de tiempo del tratamiento 1*

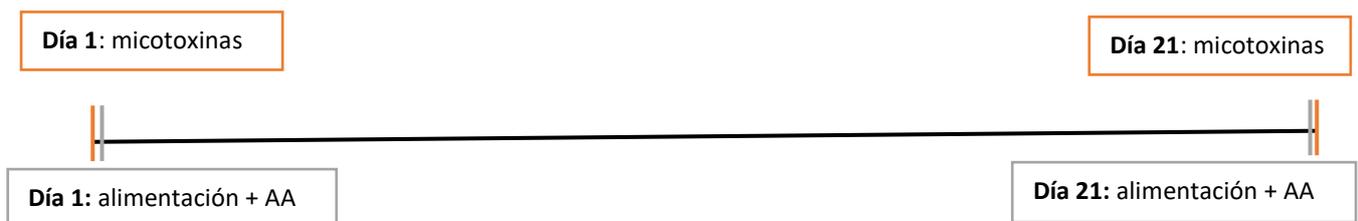


### Tratamiento # 2

Día 1 a 21: Se alimentó a los animales con dieta base más 300mg de ácido ascórbico por cada 140 g de alimento a las 11H00. A las 18H00 se administró maíz contaminado con micotoxinas (40g/ día/ animal).

#### Figura 2:

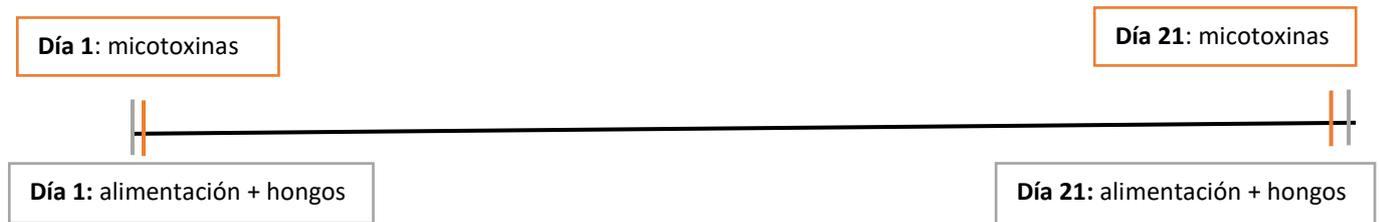
*Línea de tiempo del tratamiento 2*



### Tratamiento # 3

Día 1 a 21: Se alimentó a los animales con la dieta base a la cual se añadió un 3 % de hongos Shitakke del total de alimento a las 11H00. A las 18H00 se administró maíz contaminado con micotoxinas (40g/ día/ animal).

Figura 3: línea de tiempo del tratamiento 3



### 2.6. Diseño experimental

En la presente investigación se utilizó un diseño completo al azar (DCA), por la homogeneidad de los tratamientos; en donde se alojó a 10 cobayos macho de entre 10 a 13 días de edad que fueron repartidos entre cuatro repeticiones y tres tratamientos constituyendo un total de 120 animales como se muestra en la Tabla 2.

Se analizó el ANAVA y se separó las medias a través de la prueba de Tukey al 0.05 de confiabilidad.

**Tabla 2:**

Tratamientos y repeticiones

	Número de repeticiones	Animales por repeticiones	Total de animales por tratamiento
T1	4	10	40
T2	4	10	40
T3	4	10	40
<b>Total</b>			<b>120</b>

Fuente: Autor

Los animales fueron sometidos a un método de aleatorización para ser distribuidos en las diferentes pozas que corresponden a diferentes tratamientos y repeticiones.

## **2.7 Manejo del experimento**

### **Elección de los animales**

Se utilizó un total de 120 cobayos macho destetados de entre 10 a 13 días de edad, los mismos que fueron marcados y distribuidos por sorteo entre los diferentes tratamientos y repeticiones en pozas de 1 m ancho x 1,5 m largo x 0,50 m de alto para una distribución de 10 cobayos por poza (**Urquiza, 2016**).

### **Desinfección del área**

Antes de la llegada de los cobayos, se realizó una limpieza total del piso, paredes y pozas de manejo con complejo yodado en una relación de 5 cc por litro de agua, la cual se aplicó con la ayuda de una bomba de mochila en aspersión. La limpieza de las pozas se realizó cada semana.

### **Desparasitación**

Se desparasitó a los cobayos de introducirlos en las pozas correspondientes aplicando ivermectina al 1 % vía subcutánea en una dosis de 0.02 mg/kg.

### **Elaboración de dieta base**

Se alimentó a los cobayos con una mezcla entre balanceado comercial y alfalfa siguiendo una relación cercana al 70:30, recomendación que tiene como objetivo reducir la humedad de las heces (**Acurio, 2010**).

Siguiendo tales proporciones se alimentó a los animales con un total de 110 gramos de forraje diario (MS), cantidad recomendada para cobayos en etapa de crecimiento hasta la 4ta semana de edad (**Acurio, 2010**) junto con 30 g de balanceado/día/animal (**López, 2016**) por un periodo de 21 días. Siendo que en cada poza se ubicaron un total de 10 cobayos, la cantidad de alimento total diario ofrecido por poza fue de 1400 gramos, misma que se suministró a cada una de las repeticiones de cada tratamiento. La cantidad de agua a suministrar fue ad libitum (**López, 2016**).

### **Aplicación de vitamina C.**

Para el tratamiento número 2 se adicionó un total de 300 mg de ácido ascórbico por cada 140 gramos de alimento (**NETKE et al., 1997**) durante 21 días a las cuatro pozas respectivas del tratamiento.

### **Adición de hongos Shitakke.**

Para el tratamiento número 3 se adicionó del total de alimento suministrado a las pozas un 3% de hongos Shitakke (*L. edodes*) (**Jung et al., 2012**) durante 21 días a las cuatro repeticiones del tratamiento.

### **Adición de micotoxinas a la dieta**

Para lograr producir micotoxinas se almacenó un total de 80 kg de maíz en un cuarto húmedo y oscuro por un periodo de 15 días, luego de este lapso de tiempo se recogió una muestra de 500 gramos del cereal contaminado, misma que fue enviada al laboratorio para confirmar su contaminación.

Una vez confirmada la presencia de micotoxinas en el maíz, se alimentó a los cobayos con 40 g/ animal/ día (**Rodríguez, 2014**) a las 18H00 diariamente durante los 21 días de la prueba de campo.

### **Análisis de la morbilidad y mortalidad**

Se contó el número de casos presentados en cada grupo de estudio, tomando en cuenta su estado físico como condición corporal, aspecto de piel y faneras junto a otros signos que pudieran estar presentes como diarrea, siendo también tomados en cuenta casos de mortalidad que se pudieran presentar los días posteriores a la suplementación de micotoxinas.

La morbilidad y mortalidad por micotoxicosis se determinó mediante el método utilizado por (**Chaudhary, 2015**) en donde se divide el número de animales muertos entre la cantidad de animales totales, resultado que se multiplicó por 100.

IM y Mo= (Animales muertos / animales totales) x 100.

IM y Mo: Índice de morbilidad y mortalidad.

### **Consumo de alimento (CAT)**

Esta fue tomada diariamente, en donde se restó la cantidad de alimento total ofrecido por cada unidad experimental, de la cantidad de alimento residual que fue pesada a las 8H00 am del día siguiente, siguiendo la siguiente fórmula:

$$CDA = AT - AR$$

CDA: Consumo de alimento

AT; Alimento total

AR: Alimento residual

### **Ganancia de peso (GP)**

Los cobayos se pesaron al comienzo de la prueba de campo con la ayuda de una balanza electrónica, repitiéndose diariamente el proceso con los cobayos en ayunas hasta concluir el estudio. En donde antes de cada pesaje se redujo el peso del balde a utilizar mediante la opción tarar, para posteriormente colocar a cada animal de cada tratamiento dentro del mismo y obtener el peso respectivo. Para el cálculo de la ganancia de peso se aplicó la siguiente fórmula:

$$GP = P \text{ final} - P \text{ inicial}$$

### **Conversión alimenticia (CA)**

Para el cálculo de la conversión alimenticia se aplicó la siguiente fórmula.

$$CA = CDA / GMP.$$

CA: Conversión alimenticia

GMP: Ganancia media de peso.

CDA: Consumo de alimento.

### **Procedimiento de la necropsia**

Una vez terminado el estudio de los cobayos vivos se siguió el siguiente procedimiento:

- 1.-Identificación del cobayo según el marcaje.
- 2.-Evaluación del aspecto externo del cobayo tomando en cuenta: presencia de decaimiento, pelo erizado o algún tipo de alteración en faneras, así como signos de diarrea o baja condición corporal.
- 3.-Pesaje final de los cobayos.
- 4,-Para poder revisar la condición de los órganos y lograr extraer una muestra del hígado se sacrificó a los animales con la técnica de desnucado, y una vez removido las vísceras con la ayuda de un bisturí se extrajo en vasos plásticos estériles con formol al 10% las muestras del hígado para ser enviados al laboratorio para examen histopatológico.

## **2.8 Variables respuesta**

### **Morbilidad y mortalidad**

La morbilidad y mortalidad por micotoxicosis se determinó por la división entre el número de animales muertos durante el periodo experimental sobre el número total de animales por tratamiento, valor que se multiplicó por 100 (**Chaudhary, 2015**), por tal razón el resultado se expresó en porcentaje.

### **Contenido de micotoxinas**

La cantidad de micotoxinas en el maíz se expresaron en  $\mu\text{g}/\text{kg}$  de alimento.

### **Consumo de alimento (CAT)**

Los valores se expresaron en gramos.

### **Ganancia de peso (GP)**

Los valores se expresaron en gramos

### **Conversión alimenticia (CA)**

Al ser un índice, no será expresado en alguna medida determinada, el valor obtenido indica que por dicha cantidad de alimento consumido el animal gana un kilogramo de peso.

### **Necropsia**

Se describieron las lesiones microscópicas observadas, mientras que las macroscópicas se expresaron en porcentaje, dependiendo la frecuencia y el tipo de lesión que presentaron los órganos, tales como;

Hígado: congestión, zonas blancas, entre otras.

Pulmón: focos hemorrágicos, congestión, granulomas, entre otras.

Riñones: color pálido, focos hemorrágicos, zonas opacas, entre otras.

Bazo: color oscuro, tamaño reducido, entre otras.

## **2.10 Procesamiento de la información**

Se procesó la información en el programa estadístico INFOSTAT versión 2020.

### III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 3.1 Análisis y discusión de los resultados.

El examen de micotoxinas mostró que en el maíz se presentaban un total de 4 micotoxinas; zearalenona (150 µg/kg), deoxynivalenol (1500 µg /kg), y fumonisinas B1 (1500 µg /kg) y B2 (450 µg/kg) como se muestra en el anexo 1.

Para mayor detalle, las micotoxinas producidas por hongos del grupo *Fusarium* se indican a continuación en la Tabla 3:

**Tabla 3:**

*Tipos de micotoxinas que producen los hongos.*

Hongo	Micotoxina
<i>Aspergillus parasiticus</i>	Aflatoxinas B1, B2, G1, G2
<i>A. flavus</i> g	Aflatoxinas B1, B2
<i>Fusarium sporotrichioides</i>	T-2 toxina
<i>F. graminearum</i> (roseum)	Deoxynivalenol (DON), zearalenona
<i>F. verticillioides</i> , <i>F. proliferatum</i>	Fumonisin
<i>Penicillium verrucosum</i> , <i>A. ochraceus</i>	Ochratoxina A
<i>Claviceps</i> spp., <i>Neotyphodium coenophialum</i>	Ergot alkaloids

Fuente: (Haschek & Voss, 2013)

#### 3.1.1 Resultados de las lesiones macroscópicas y microscópicas

Se sacrificó a un total de 15 cobayos por tratamiento por la técnica de desnucado, para posteriormente proceder con la necropsia, con el objetivo de evaluar el estado del hígado, pulmón, riñón y bazo, en donde se obtuvieron los siguientes resultados:

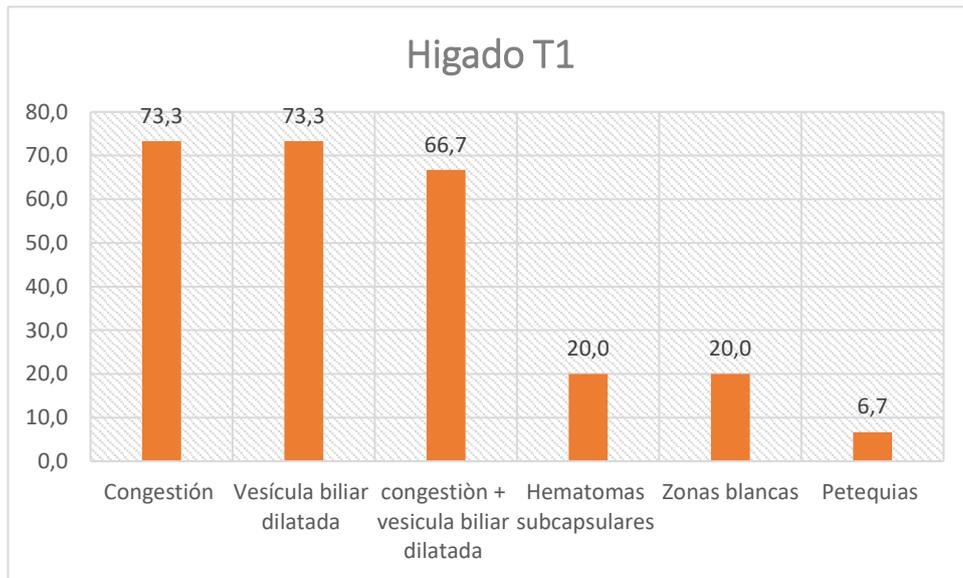
## Lesiones macroscópicas de T1

### Hígado

Se presentaron casos de congestión en un 73.3% de los animales, teniendo una proporción similar en cuanto a la presentación de vesícula biliar dilatada (73.3%), sin embargo, la frecuencia en la que se presentaron juntos es de apenas del 66.6%. Por otro lado, también se presentaron hematomas subcapsulares y zonas blancas en un 20%, y petequias en el 6.6% de los casos.

#### Figura 4:

*Frecuencia de lesiones en hígado (T1)*

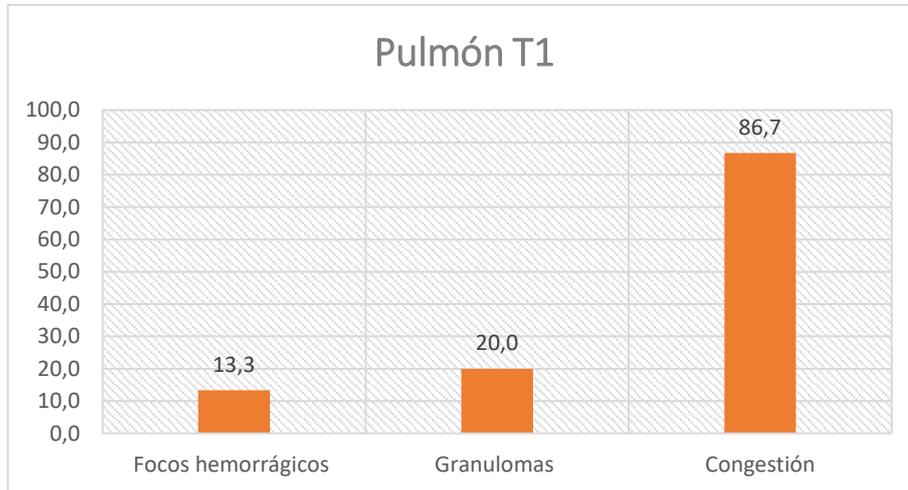


### Pulmón

Se presentaron focos hemorrágicos en el 13.3 % de los animales, granulomas en un 20% siendo los casos de congestión los más comunes presentándose en un 86.7%.

**Figura 5:**

*Frecuencia de lesiones en pulmón (T1)*

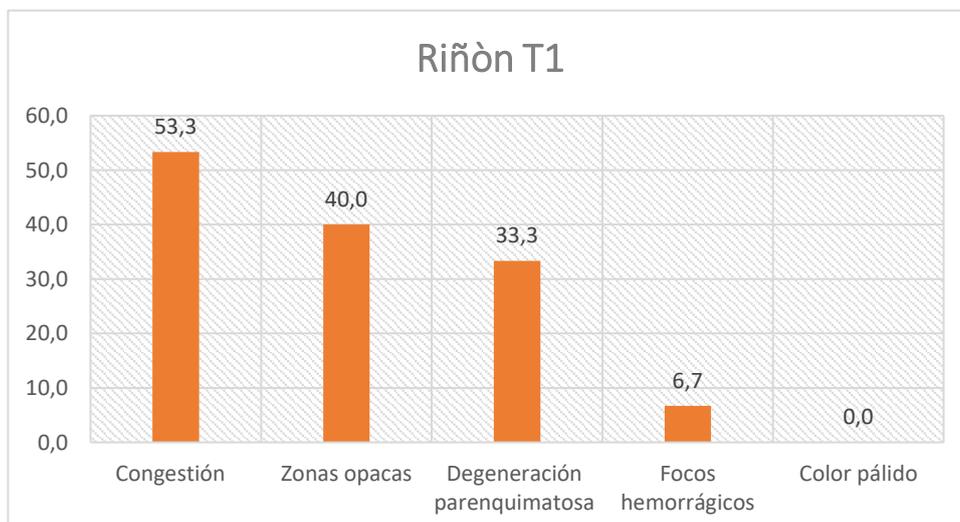


## **Riñón**

Se presentaron casos de congestión en un 53.3%, zonas opacas en un 40%, degeneración parenquimatosa en un 33.3% y focos hemorrágicos en un 6.7% de los animales.

**Figura 6:**

*Frecuencia de lesiones en riñón (T1)*

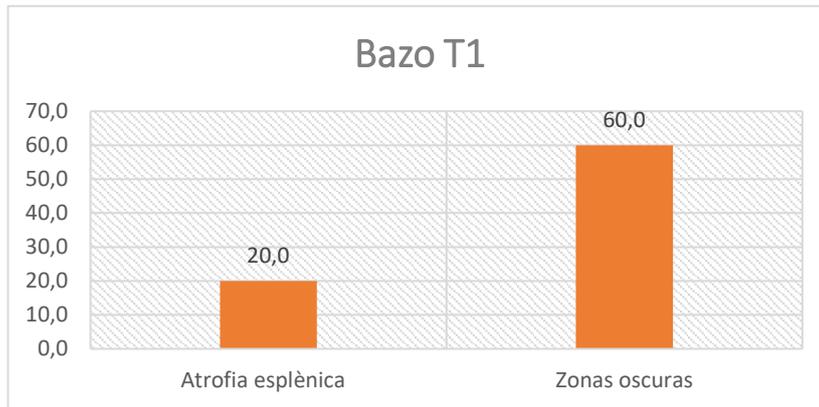


## Bazo

Se presentaron dos tipos de lesiones en este órgano, una de ellas son zonas oscuras llegándose a presentar en un 60% y atrofia esplénica en el 20% de los animales.

### Figura 7:

*Frecuencia de lesiones en bazo (T1)*



El registro de las lesiones encontradas en los 15 cobayos sacrificados se presenta en el anexo 9.

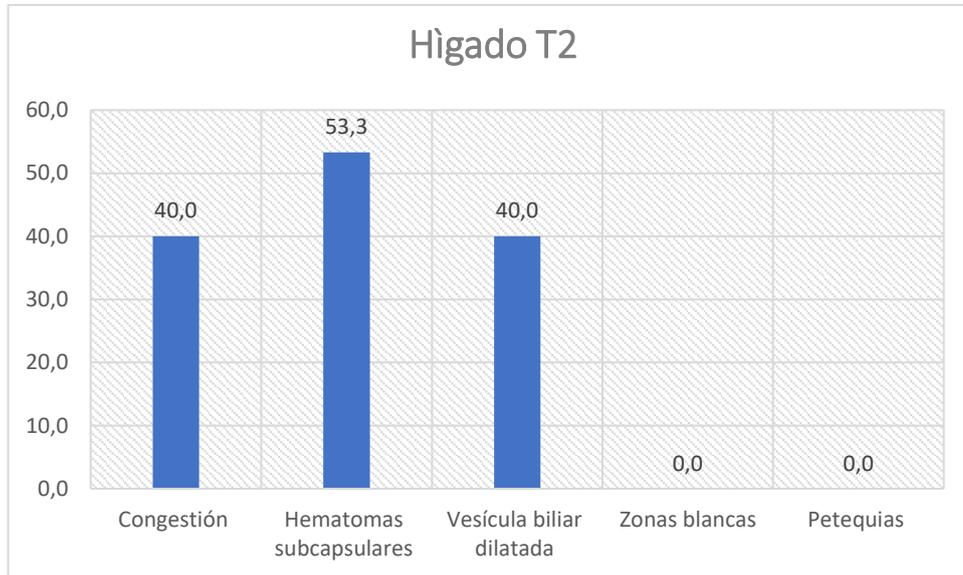
## Lesiones macroscópicas de T2

## Hígado

A diferencia del tratamiento 1 la congestión es menor, presentándose en el 40% de los cobayos, siendo más común la presencia de hematomas subcapsulares (53.3%) y casos de vesícula biliar dilatada en un 40%, sin evidencia de zonas blancas y petequias.

**Figura 8:**

*Frecuencia de lesiones en hígado (T2)*

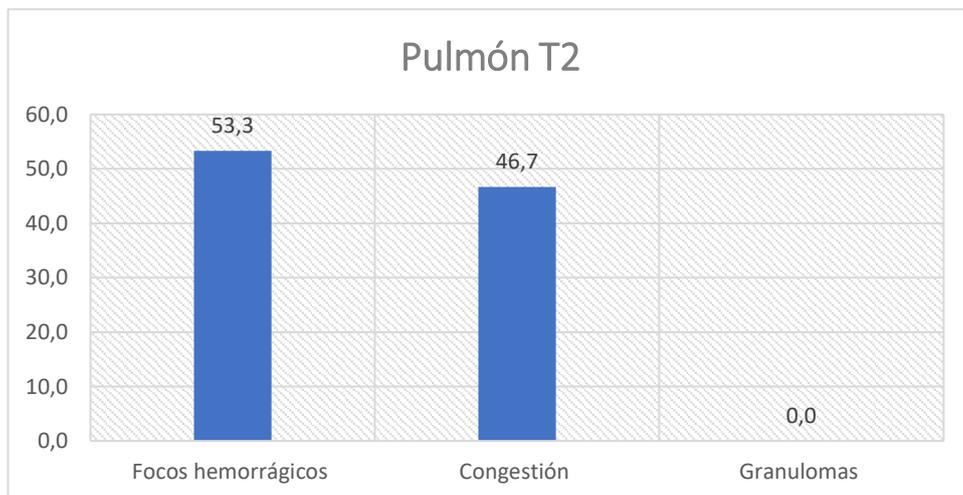


## **Pulmón**

Se apreciaron dos tipos de lesiones, siendo la más común los focos hemorrágicos presentes en el 53.3% de los animales y congestión la cual es menor que en T1 presentándose tan solo en el 46.7% de los animales, sin embargo, es importante mencionar que en este tratamiento no se observaron granulomas.

**Figura 9:**

*Frecuencia de lesiones en pulmón (T2)*

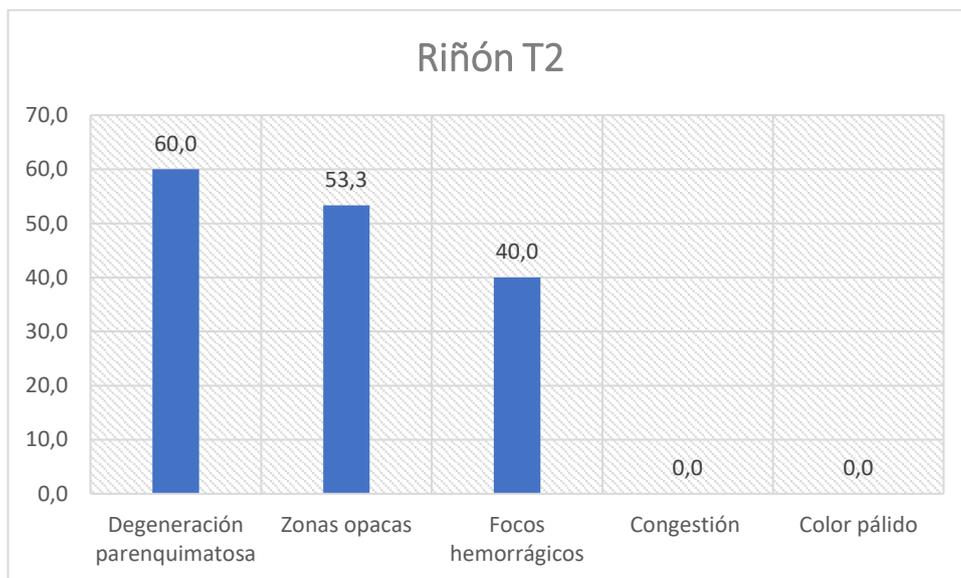


## Riñón

Se observó degeneración parenquimatosa en el 60% de los cobayos, zonas pálidas en un 53.3% y focos hemorrágicos en un 40%, sin evidencia de congestión 0%.

### Figura 10:

*Frecuencia de lesiones en riñón (T2)*

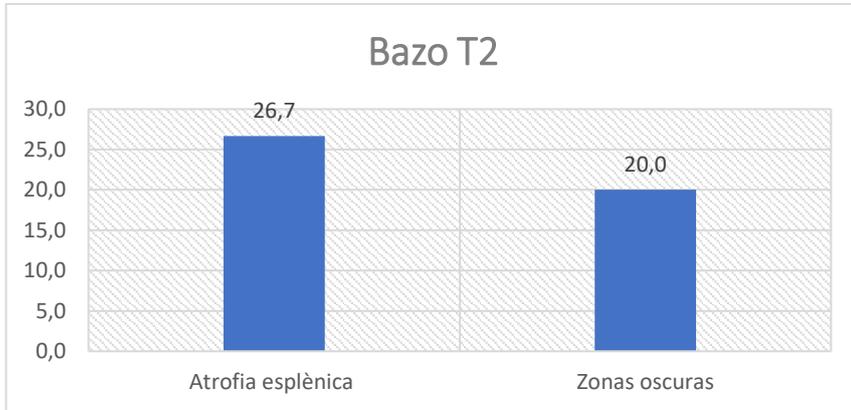


## Bazo

Se apreció principalmente dos tipos de lesiones anatómo-patológicas, tales como atrofia esplénica (reducción del tamaño) presentándose en el 26.7% de los casos y zonas oscuras en un 20% del total de animales correspondientes al tratamiento.

**Figura 11:**

Frecuencia de lesiones en bazo (T2)



El registro de las lesiones encontradas en los 15 cobayos sacrificados se presenta en el anexo 10.

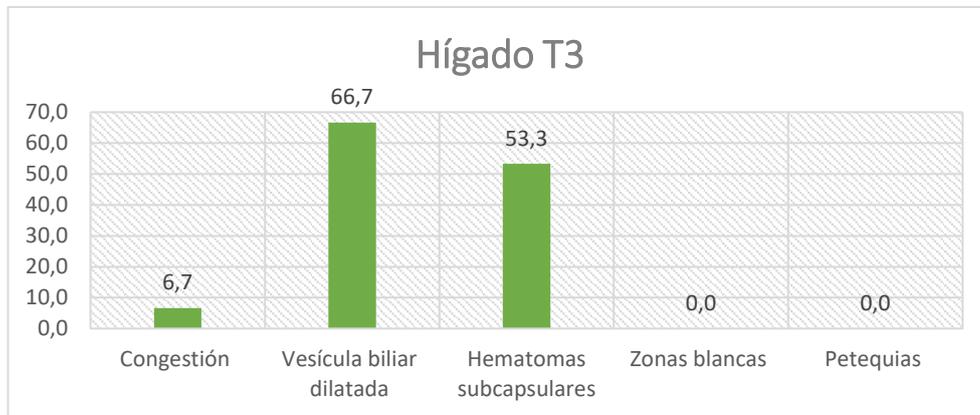
### **Lesiones microscópicas en T3**

#### **Hígado**

A diferencia de los anteriores tratamientos este presentó un grado bajo de congestión, pues se presenta en el 6.7% de los animales sacrificados, siendo más común la presencia de una vesícula biliar dilatada (66.7%), y hematomas subcapsulares presentes en el 53.3% de los animales, presentándose estas dos últimas lesiones en conjunto únicamente en el 26.7% de los animales.

**Figura 12:**

*Frecuencia de lesiones en hígado (T3)*

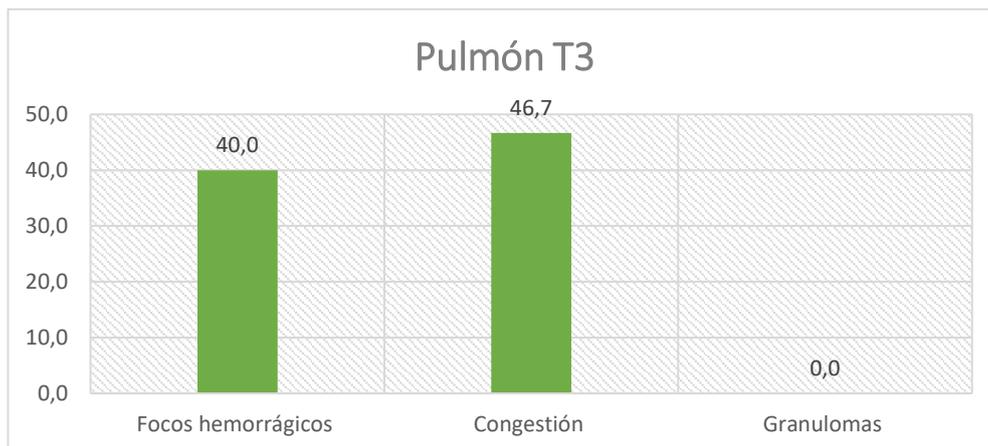


### **Pulmón**

Se encontraron únicamente dos lesiones en este órgano, tales como focos hemorrágicos evidenciados en el 40% de los animales y en un 46.7% se presentó congestión dando un total de un 86.7%, sin embargo, hay que mencionar que en el 13.3% restante de los cobayos no se evidenció ninguna lesión anatómo-patológica.

**Figura 13:**

*Frecuencia de lesiones en pulmón (T3)*

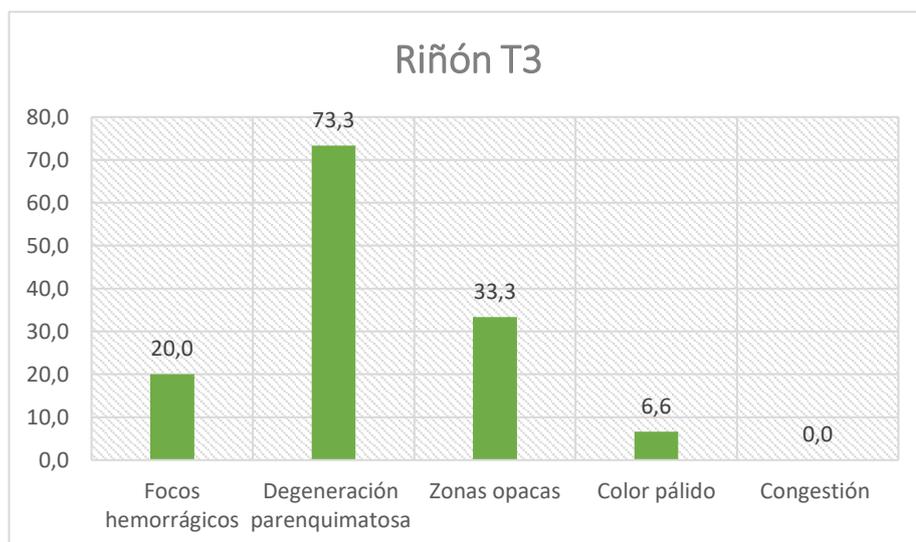


## Riñón.

Se puede apreciar una disminución en la frecuencia de aparición de focos hemorrágicos en este tratamiento en comparación con T2, pues se encontró únicamente en el 20% de los animales, sin embargo, se logra apreciar con mayor facilidad la degeneración parenquimatosa que llegó a presentarse en el 73.3% de los animales y zonas opacas en el 33.3 %, sin embargo, aquí se presentó el único caso en el que el órgano se muestra de coloración pálida generalizado y de superficie irregular descripción compatible con un riñón infartado (6.6% de los animales).

**Figura 14:**

*Frecuencia de lesiones en riñón (T3)*

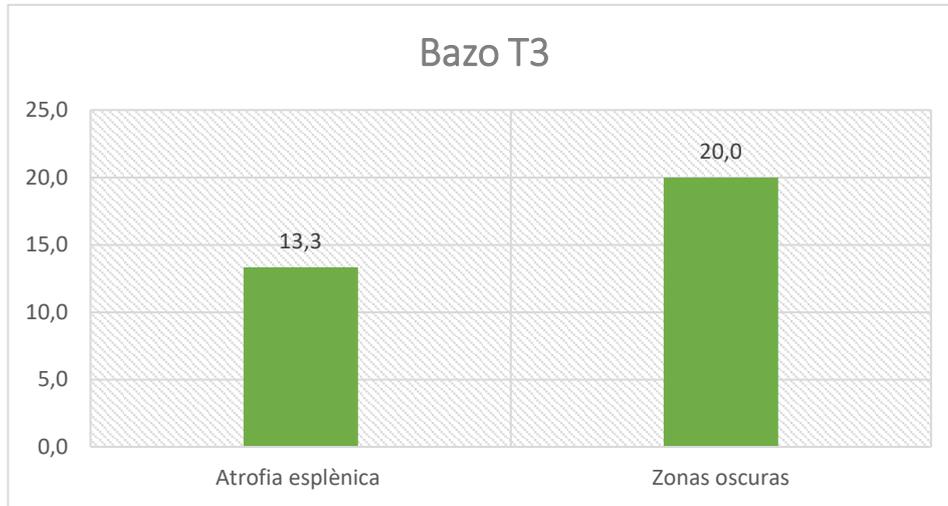


## Bazo

En este tratamiento solo se apreció en un 13.3% de los animales atrofia esplénica y en un 20% se evidenció la presencia de zonas oscuras.

**Figura 15:**

*Frecuencia de lesiones en bazo (T3)*



El registro de las lesiones encontradas en los 15 cobayos sacrificados se presenta en el anexo 11.

### **Lesiones microscópicas**

#### **Tratamiento 1.**

La lesión más notoria fue la aparición de varios grupos de hepatocitos de color acidófilo, en su mayoría carentes de núcleo, mismo que han perdido delimitación entre ellos (necrosis coagulativa); de igual manera se logra apreciar dilatación sinusoidal tanto perivenular como de topografía irregular junto con congestión tanto severa pasiva. Se aprecia disminución en la capacidad de adhesión de los hepatocitos, además de la acumulación de gran cantidad de glóbulos rojos en las ramas de las venas centrales siendo que esta última se presenta considerablemente dilatada en el caso de congestión severa. Algunas arterias se aprecian considerablemente dilatadas con abundantes eritrocitos, y algunos de los canalículos biliares tienen su luz estrechada rodeada de escaso tejido laxo. (Ver anexo 19).

## **Tratamiento 2**

Se observaron varios grupos de hepatocitos de color acidófilo en su mayoría sin núcleo (necrosis coagulativa), pero con menor frecuencia que en T1, por otro lado, se apreció acumulación de pocos eritrocitos en los espacios sinusoidales (congestión pasiva) que a diferencia del T1 no se llega a manifestar junto con una dilatación sinusoidal, sino cada uno por separado. Se observa de igual manera dilatación de la luz de la arteria hepática en el cual se logra apreciar una gran cantidad de eritrocitos al igual que en las ramas de la vena central (Ver anexo 20).

## **Tratamiento 3**

Se observó en una de las placas una cantidad mínima de hepatocitos acidófilos con núcleos opacos (necrosis coagulativa). Se aprecia dilatación considerable de las arterias hepáticas, pero con poca presencia de glóbulos rojos además de dilatación sinusoidal perivenular sin evidencia de congestión pasiva. Los canalículos biliares se aprecian normales al igual que las venas centrales (ver anexo 21).

### **3.1.2 Discusión de las lesiones macroscópicas y microscópicas**

El hígado fue uno de los órganos más afectados entre los diferentes tratamientos, siendo así que en el grupo alimentado sin aditivos (T1) se apreciaron casos de congestión en un 73.3%, a diferencia de los demás tratamientos como los que recibieron ácido ascórbico (T2) que presentaron congestión en un 40% y los de hongos Shitakke que apenas tuvieron el 6.7%, lo que demuestra en gran manera el desempeño del hongo Shitakke, corroborando lo observado en las placas histopatológicas pues en T1 se llega a apreciar tanto congestión pasiva como severa, a diferencia de T2 que con 40% de congestión y un 53.3% de hematomas subcapsulares, histopatológicamente se logra observar congestión pasiva y una acumulación abundante de eritrocitos en los

vasos, mientras que en T3 al tener solo el 6.7% de congestión y 53,3 % de hematomas subescapulares solo se logra apreciar más que una acumulación considerable de eritrocitos en los vasos.

Por otro lado, al observar el estado de los demás órganos como el pulmón es notorio que la frecuencia en la que se presenta una congestión disminuye, siendo que en T2 un 40% de los cobayos mostraron congestión, mientras que en T3 se presentaron en un 46.7% en comparación con T1 en el que se presenta en el 86.7% de los animales, siendo el mismo caso con el riñón, habiendo notables diferencias entre los resultados de T3 y T2 con los de T1, coincidiendo con los datos obtenidos por **(Rodríguez, 2014)** el cual luego de contaminar el alimento de cobayos con hongos *Fusarium. sp* (productores de micotoxinas como zearalenona, deoxinivalenol y fumonisina) reportó hígados congestionados y pulmones con abundantes focos hemorrágicos en su descripción, pudiendo deberse a los efectos hematotóxicos de la zearalenona alterando la coagulación y reduciendo el número normal de plaquetas, mientras que **(Dinev, 2015)** describe las distintas lesiones causadas por fusariotoxinas en donde en su mayoría son de naturaleza hemorrágica y que los órganos principalmente afectados son el hígado y el intestino.

El riñón en T1 se muestra en su mayoría congestionado (53.3%), pudiendo deberse a una alteración en la coagulación como se mencionó anteriormente, al igual que los focos hemorrágicos en T2 (40%) y T3 (20%), sin embargo, las zonas pálidas y la degeneración parenquimatosa llegan a presentarse o al menos pueden lograr apreciarse a menudo en los cobayos a los que se les suplementó ácido ascórbico y hongos *Shitakke*, lesiones que también fueron reportadas por **(Rodríguez, 2014)**. que alimentó a cobayos con hongos *Fusarium* durante 7 semanas en donde describe que en los riñones se observan de color pálido, siendo uno de los órganos más afectados, sin embargo, aunque en T3 se logró reducir la frecuencia de las lesiones hemorrágicas, al igual que en la investigación de Rodríguez, en nuestro estudio las zonas opacas no llegan a controlarse en su totalidad siendo que en T1 aparecen en una frecuencia de 40% y en T3 con los hongos *Shitakke* se presentan en el 33.3% de los animales.

El bazo es uno de los órganos que muestra una mejoría considerable, mostrando en T1 zonas oscuras en un 60 % y atrofia esplénica del mismo en un 20%, mientras que en T3 las zonas oscuras se presentan con menos frecuencia, presentándose en el 13,3% de los animales sacrificados, mientras que la atrofia esplénica se mantiene en un 20%, datos compatibles con la investigación de **(Rodríguez, 2014)** en donde dos de las principales lesiones que reporta es la atrofia esplénica y coloración oscura del mismo, en donde el autor relaciona estas lesiones con la contaminación de fusariotoxinas. **(Rodríguez, 2014)**.

Por otro lado, es evidente que el tratamiento que presenta mejores resultados es T3, pues se redujo la presencia de lesiones hemorrágicas, pudiendo deberse al efecto beneficioso que este tiene a nivel sanguíneo, como lo reporta **(Soroko et al., 2022)** en su investigación en caballos, además de la capacidad antiinflamatoria y antioxidante que estas poseen, como lo reportan **(Campuzano & Carpio, 2020 & Xu et al., 2008)** en sus investigaciones, siendo esta última una de las principales razones por las que T3 presenta menos daño en los diferentes órganos, pues el estrés oxidativo que producen las micotoxinas llegan a desencadenar varios tipos de daño celular entre los que destaca la peroxidación lipídica que suele llevar a hepatotoxicidad con la futura pérdida de hepatocitos, razón por la que T2 también llega a mejorar el estado de los órganos, sin embargo, a diferencia del ácido ascórbico los hongos Shitakke poseen otros principios activos aparte de los  $\beta$ -glucanos, tales como la eritadenina que destaca por sus capacidad para controlar los niveles de colesterol sérico reduciendo el riesgo de peroxidación lipídica, quitina que tiene capacidades antimicrobianas, hemostáticas y antioxidantes **(Rivera et al., 2017)**, entre otros, que contribuyeron a mejorar el estado de los órganos de los cuyes.

### 3.1.3 Resultado de índices productivos

Es relevante demostrar que existe una homogeneidad en cuanto a los pesos iniciales entre tratamientos en el día 1 para lo cual se realizó una prueba de T student para pruebas independientes obteniendo valores superiores a 0.05 en donde no existe diferencias significativas, pues, el pHomVar ( $p < 0.05$ ) entre T1 y T2 es de 0.5258 lo que señala que las variables de ambos tratamientos son homogéneas entre sí, caso similar al de T1 con T3 con valores de 0.4079 y de T2 con T3 con un 0.8385 de pHomVar ( $p < 0.05$ ), por lo que se puede concluir que existe homogeneidad entre las variables, como se resume en la Tabla 5. Ver análisis en el anexo 2.

**Tabla 4:**

*pHomVar de los pesos iniciales entre tratamientos.*

Tratamientos	pHomVar
T1 – T2	0.5258
T1 – T3	0.4079
T2 – T3	0.8385

pHomVar: homogeneidad de variables

T1: dieta sin aditivos T2: dieta + ácido ascórbico T3; dieta + hongos Shitakke.

Fuente: Autor.

### Ganancia de peso (GP)

La ganancia de peso promedio por unidad experimental obtenida, se resume en la Tabla 4 siendo que se tomaron en cuenta los días 1, 14 y 21 respectivamente:

**Tabla 5:**

Prueba de Tukey y ANAVA de los pesos en los días 1, 14 y 21

Tratamientos	Peso Día 1 (g)	Peso día 14 (g)	Peso día 21 (g)	GP (g)
T1R1	228	249	277	49
T1R2	232	249	273	41
T1R3	250	268	303	53
T1R4	253	275	299	46
Promedio	240,8A	260,3A	288A	47,3A
T2R1	244	287	317	73
T2R2	258	298	326	68
T2R3	264	303	333	69
T2R4	257	298	323	66
Promedio	255,8A	296,5B	324,8B	69B
T3R1	250	295	322	72
T3R2	258	303	331	73
T3R3	266	310	338	72
T3R4	265	309	337	72
Promedio	259,8A	304,3B	332B	72,3B
p valor	0.0505	0.0002	0.005	<0.0001

Medias con letra diferente en la misma columna son diferentes estadísticamente ( $p < 0.05$ )

T1: dieta sin aditivos T2: dieta + ácido ascórbico T3: dieta + hongos Shitakke.

Fuente: Autor

### Día 1

La prueba de Tukey ( $p < 0.05$ ) muestra que no existen diferencias significativas entre tratamientos el día 1, con un ( $p < 0.05$ ) de 0.0505 en el ANAVA, lo que significa que los pesos son homogéneos, como se puede evidenciar en la Tabla 4.

### Día 14

El ANAVA muestra que existen diferencias significativas entre los pesos de los tratamientos el día 14, pues expresa un ( $p < 0.05$ ) de 0.0002, mientras que la prueba de Tukey ( $p < 0.05$ ) señala que esta diferencia estadística se debe a la comparación de T1 con los demás tratamientos ( T2 y T3) como se evidencia en la Tabla 4, lo que

señala que tanto el ácido ascórbico como los hongos Shitakke tienen un efecto positivo ante la ganancia de peso ya que controla el efecto negativo de las micotoxinas, Ver ANAVA en anexo 4.

## **Día 21**

En el día 21 el ANAVA muestra que existen diferencias significativas entre tratamientos con un ( $p < 0.05$ ) de 0.005, sin embargo, al igual que en el día 14 la prueba de Tukey ( $p < 0.05$ ) refleja que esta diferencia estadística se debe a la diferencia existente entre T1 con los demás tratamientos (T2 y T3), como se muestra en la Tabla 4. Todo esto señala que en lo referente al peso de los animales la adición tanto de hongos Shitakke (T3) como de ácido ascórbico (T2) reducen considerablemente los efectos negativos de las micotoxinas en cuanto a la dificultad de crecimiento durante las primeras tres semanas. Ver ANAVA en anexo 5.

En cuanto a las ganancias de peso, se obtuvo el promedio al final del experimento, en donde el ANAVA con un ( $p < 0.05$ ) de  $<0.0001$  señala que existen diferencias significativas entre los tratamientos, mientras que la prueba de Tukey indica que el tratamiento que muestra diferencia estadística es T1 con valores de 47,3 g de GP, pues T2 y T3 son estadísticamente similares con valores de 69 y 72,3 g de GP respectivamente. Ver ANAVA en anexo 6.

## **Consumo de alimento (CAT)**

**Tabla 6:**

*Valores promedio de consumo de alimento total.*

	T1 (g)	T2 (g)	T3 (g)	p valor
R1	2636,6	2467,8	2527,3	
R2	2631,6	2311,9	2438,1	
R3	2639,2	2522,3	2399,3	
R4	2629,7	2366,4	2488,5	

Promedio	2634,3A	2417,1B	2463,3B	0,002
----------	---------	---------	---------	-------

Medias con letra diferente en la misma fila son diferentes estadísticamente ( $p < 0.05$ )  
T1: dieta sin aditivos T2: dieta + ácido ascórbico T3; dieta + hongos Shitakke.

Fuente: Autor

El ANAVA muestra que existen diferencias significativas entre tratamientos, expresando un ( $p < 0.05$ ) de 0.002, mientras que la prueba de Tukey al 0.05 indica que T2 y T3 son diferentes a T1, siendo los cobayos de T1 los que consumieron mayor cantidad de alimento (2634,3 g) mientras que en el caso de T2 (2417,1 g) y T3 (2463,3 g) no se evidencian diferencias estadísticas entre los mismos, lo que indica que la adición de ácido ascórbico y el hongo Shitakke reduce el consumo de alimento manteniendo una mayor ganancia de peso. Ver ANAVA en anexo 7.

### Conversión alimenticia (CA)

**Tabla 7:** Valores promedio de conversión alimenticia

	T1	T2	T3	p valor
R1	5,38	3,38	3,51	
R2	6,42	3,40	3,34	
R3	4,98	3,67	3,33	
R4	5,72	3,58	3,46	
Promedio	5,63A	3,51B	3,41B	<0.0001

Medias con letra diferente en la misma fila son diferentes estadísticamente ( $p < 0.05$ )  
T1: dieta sin aditivos T2: dieta + ácido ascórbico T3; dieta + hongos Shitakke.

Fuente: Autor

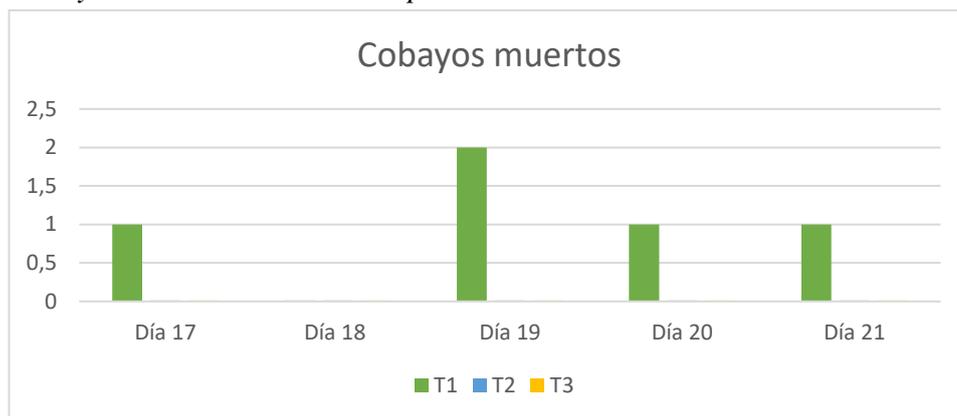
Se tomó en cuenta la conversión alimenticia acumulada hasta el día 21 de cada tratamiento (resumidos en la Tabla 7). El ANAVA arroja un ( $p < 0.05$ ) de <0.0001, señalando que existen diferencias significativas entre los tratamientos. Posteriormente se realizó una prueba de Tukey al 0.05 en el que destacan diferencias estadísticamente significativas entre los cobayos alimentados sin algún aditivo (T1) que presentaron la conversión alimenticia más elevada (5,63) y los que recibieron ácido ascórbico (T2) con un índice de 3.51 y hongos Shitakke (T3) que presentan la mejor conversión alimenticia de los tres tratamientos con un valor promedio de 3.41, como se resume en la Tabla 7. Todo esto sugiere que T2 y T3 mejora la ganancia de peso, el consumo de

alimento y por ende una mejor conversión alimenticia, como se puede observar en la Tabla 7. Ver ANAVA en anexo 8

### Índice de morbilidad y mortalidad

**Figura 16 :**

*Cobayos muertos durante el experimento.*



En la figura 16 se puede evidenciar que durante el experimento se llegó a una mortalidad de 5 animales de un total de 40, lo que representa el 12.5 %

**Tabla 8:**

*Valores de índice de morbilidad y mortalidad.*

	Número de cobayos totales	Número de animales muertos	Índice de mortalidad y morbilidad (%)
T1	40	5	12.5
T2	40	0	0
T3	40	0	0

Fuente: Autor

En la tabla 8 se puede evidenciar que durante la prueba de campo el 12.5% de los cobayos de T1 murieron durante el desarrollo experimental mostrándose en la Figura 16 el periodo en el que los animales murieron, a diferencia de los demás tratamientos en los que se evidenció un 0% de mortalidad (T2 y T3), indica que la adición de ácido ascórbico y de hongos Shitakke son capaces de mejorar la supervivencia del animal

ante la ingestión de micotoxinas. Es importante recalcar que al tener un 12.5 % de mortalidad en un lapso de tres semanas, es un parámetro alto en una explotación caviola.

#### **3.1.4 Discusión de los índices productivos.**

En cuanto a la ganancia de peso de los animales existe una diferencia estadísticamente significativa de T2 y T3 en comparación con T1, en cuanto a las ganancias de peso, se obtuvo el promedio al final del experimento, en donde el ANAVA con un ( $p < 0.05$ ) de  $<0.0001$  señala que existen diferencias significativas entre los tratamientos, mientras que la prueba de Tukey indica que el tratamiento que muestra diferencia estadística es T1 con valores de 47,3 g de GP, pues T2 y T3 son estadísticamente similares con valores de 69 y 72,3 g de GP respectivamente. Resultados compatibles a los del estudio realizado por **(Rodríguez, 2014)** el cual alimentó a cobayos durante 3 semanas con hongos fusarium, reportando una ganancia de peso de 36.25 g comparado con los resultados de T1 en nuestra investigación en donde se obtuvo una ganancia de peso de 47.3 al no recibir ningún aditivo. De igual manera **(Iverson et al., 1995)** en sus resultados explican que en las curvas de peso corporal tanto en machos como en hembras los distintos grupos de dosis son diferentes entre sí, con menores ganancias de peso asociadas con un nivel creciente de DON en la dieta (35.09g), siendo que al final del estudio los ratones del grupo control tuvieron una media de 43.87 g de peso, lo que indica que los animales que no recibieron micotoxinas tienen ganancias superiores de peso. En nuestro estudio, la adición de ácido ascórbico y hongos Shitakke registran ganancias de peso superiores.

En cuanto al consumo de alimento, a lo largo de las tres semanas que duró el experimento el tratamiento que consumió mayor cantidad de alimento fueron los cobayos que no recibieron ningún tipo de aditivos (T1) (2634,3g), mientras que en T3 hubo un consumo total de 2463,3 y en T2 de 2417,1 g. Estos resultados son diferentes a los reportados por **(Iverson et al., 1995)** en su estudio donde evalúa el consumo de alimento en ratones intoxicados con DON, en donde el grupo control llega a consumir

4.30 g de alimento mientras que los ratones alimentados con 5 ppm de deoxilivalenol su consumo se redujo a 4.05 g y aquellos que recibieron mayor cantidad (10 ppm) consumieron 3.95 g de alimento total. Lo que significa que a mayor cantidad de DON el consumo de alimento es menor. Nuestra investigación reporta que los animales alimentados con micotoxinas y que recibieron ácido ascórbico y hongos Shitakke (T2 y T3) el consumo de alimento es menor con referencia al testigo, pero registran mejores valores en las ganancias de peso.

En cuanto a la conversión alimenticia, T1 es el tratamiento con el índice más elevado con un promedio de 5,2 en comparación con los cobayos de T2 que muestran una conversión de 3.51, y T3 que al tener mejor ganancia de peso obtuvo valores de 3.41, coincidiendo con el estudio de **(Iverson et al., 1995)** en el cual concluye que las micotoxinas (DON) tienen varios efectos negativos en las que resalta su capacidad para disminuir la eficiencia de conversión alimenticia y provocar reducciones significativas en el peso corporal de los roedores, hecho que coincide con los datos de **(Rodríguez, 2014)**, el cual contaminó el alimento de cobayos durante 6 semanas con hongos Fusarium, en donde los diferentes niveles de dosis que puso a prueba obtiene una conversión alimenticia mínima de 5.1 y máxima de 5.7 en cobayos macho, donde el mismo autor menciona que todos los cobayos que recibieron hongos en la dieta afectaron su conversión alimenticia, lo que permite destacar el desempeño del ácido ascórbico y hongos Shitakke pues lograron disminuir el índice de conversión de 5,2 a 3,4.

Todo esto podría relacionarse al hecho de que uno de los principales efectos de las micotoxinas es el desequilibrio a nivel celular, lo que conlleva a la excesiva producción de radicales oxígeno, mismos que sobrepasan la capacidad antioxidante de la célula produciendo daños a las proteínas, muerte celular y peroxidación lipídica **(Da Silva et al., 2018)** que llevara posteriormente al desarrollo de hepatotoxicidad lo que desemboca en un desequilibrio metabólico **(Darwish, 2019)**, lo que dificultará su crecimiento y disminuirá la capacidad de aprovechar el alimento, sin embargo, al tener

T2 y T3 fuentes antioxidante dichos efectos perjudiciales se redujeron, haciendo que el animal responda de mejor manera.

### **3.2 Verificación de hipótesis**

Se acepta la hipótesis alternativa, la inclusión de un 3% de hongos Shitakke (*L. edodes*) a la dieta es capaz de prevenir los efectos perjudiciales de la micotoxicosis en cobayos, siendo capaz de usarse como una alternativa de prevención.

## IV. CONCLUSIONES Y OMENDACIONES

### 4.1 Conclusiones

- La inclusión de hongo Shitakke en la dieta de cobayos mostró tener resultados positivos, al reducir la intensidad de lesiones tanto a nivel microscópicos y macroscópicos además de mejorar los índices productivos, lo que permite considerarla como una nueva alternativa para combatir los efectos perjudiciales de la micotoxicosis en cobayos.
- Lesiones como congestión y focos hemorrágicos disminuyeron con la adición de ácido ascórbico ( T2) y de hongos Shitakke ( T3) en los diferentes órganos, lo que indica que los hongos ( *L. edodes*) tienen un efecto positivo en los problemas hemodinámicos que desencadenaron las micotoxinas, sin embargo, la condición del riñón aún es discutible, siendo que, aunque disminuyeron los problemas hemorrágicos en T3, se presentaron zonas opacas (posibles zonas isquémicas) y palidez generalizada, lo que sugiere que el riñón fue uno de los órganos más afectados.
- La dieta que incluía ácido ascórbico a una dosis de 300mg por cada 140 g de alimento (T2) y en la que se incluyó hongos Shitakke al 3% del total de alimento (T3) presentaron mejores resultados que aquellos que recibieron una dieta sin aditivos (T1) en cuanto a la ganancia de peso, consumo de alimento y conversión alimenticia T2 y T3 mostraron tener efectos positivos, lo relevante es que los hongos Shitakke pueden ser usado como una opción para combatir los efectos de la micotoxina en los ámbitos antes mencionados además de mejorar la supervivencia del animal.

### 4.2. Recomendaciones

Se recomienda para futuras investigación profundizar en las lesiones histopatológicas del riñón en cobayos alimentados con hongos Shitakke ante la ingestión micotoxicosis.

Se recomienda ampliar la investigación en la etapa de engorde y demostrar si el comportamiento del hongo Shitakke influye en esta etapa.

Para futuras investigaciones se recomienda continuar con la línea de investigación en cuanto al uso de variantes del hongo Shitakke como extractos acuosos o liofilizados.

## C. MATERIALES DE REFERENCIA

### BIBLIOGRAFIA

- Acurio, L. (2010). *MEJORAMIENTO DE LA FORMULACIÓN DE ALIMENTOS BALANCEADOS MEDIANTE EL USO DE RESIDUO DE GALLETA Y SUS EFECTOS EN LA FASE DE ENGORDE EN “CUYES” (Cavia porcellus)*. Universidad Técnica de Ambato.  
<https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/845/3/AL448.pdf>
- Afiati, F., Firza, S. F., Kusmiati, & Aliya, L. S. (2019). The effectiveness  $\beta$ -glucan of shiitake mushrooms and *Saccharomyces cerevisiae* as antidiabetic and antioxidant in mice Sprague Dawley induced alloxan. *Research in Veterinary Science*, 2120(July 2020). <https://doi.org/10.1063/1.5115723>
- Alshannaq, A., & Yu, J. (2017). Occurrence, Toxicity, and Analysis of Major Mycotoxins in Food. *Environmental Research and Public Health*, 14(632), 1–20.  
<https://doi.org/10.3390/ijerph14060632>
- Campuzano, L., & Carpio, R. (2020). *Evaluación De La Actividad Antiinflamatoria in Vivo Edodes) En Ratones De Experimentación*. UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL.
- Casari, K. B. P. B., Kasuya, M. C. M., & Vanetti, M. C. D. (2011). Antimicrobial activity and mineral composition of shiitake mushrooms cultivated on agricultural waste. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 54(5), 991–1002. <https://doi.org/10.1590/S1516-89132011000500017>
- Chaudhary, J. K. (2015). Analysis of morbidity and mortality rates in bovine in Himachal Pradesh. *Research in Veterinary Science*, 6(July), 1–7.  
<https://doi.org/10.5455/vetworld.2013.614-619>
- Chen, H., Ju, Y., Li, J., & Yu, M. (2012). Antioxidant activities of polysaccharides from *Lentinus edodes* and their significance for disease prevention. *International Journal of Biological Macromolecules*, 50(1), 214–218.  
<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2011.10.027>

- Chen, Z., Zhang, F., Jiang, L., Chen, Z., & Sun, H. (2022). Toxic Effects of Mycotoxin Fumonisin B1 at Six Different Doses on Female BALB/c Mice. *Toxins*, 14(1). <https://doi.org/10.3390/toxins14010021>
- Da Silva, E. O., Bracarense, A. P. F. L., & Oswald, I. P. (2018). Mycotoxins and oxidative stress: Where are we? *World Mycotoxin Journal*, 11(1), 113–133. <https://doi.org/10.3920/WMJ2017.2267>
- Darwish, A. (2019). Fungal mycotoxins and natural antioxidants: Two sides of the same coin and significance in food safety. *Microbial Biosystems*, 4(1), 1–16. <https://doi.org/10.21608/mb.2019.37468>
- EFSA. (2011). Scientific Opinion on the risks for public health related to the presence of zearalenone in food. *EFSA Journal*, 9(6). <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2011.2197>
- El-Senousey, H. K., Chen, B., Wang, J. Y., Atta, A. M., Mohamed, F. R., & Nie, Q. H. (2018). Effects of dietary Vitamin C, Vitamin E, and alpha-lipoic acid supplementation on the antioxidant defense system and immune-related gene expression in broilers exposed to oxidative stress by dexamethasone. *Poultry Science*, 97(1), 30–38. <https://doi.org/10.3382/ps/pex298>
- Etienne, M., & Dourmad, J. (1994). Effects of zearalenone or glucosinolates in the diet on reproduction in sows : A review. *Elsevier*, 40, 99–113.
- Gelderblom, W. C. A., Cawood, M. E., Snyman, S. D., & Marasas, W. F. O. (1994). Fumonisin B1 dosimetry in relation to cancer initiation in rat liver. *Carcinogenesis*, 15(4), 790. <https://doi.org/10.1093/carcin/15.4.790>
- Haschek, W. M., & Voss, K. A. (2013). Mycotoxins. In *Haschek and Rousseaux's Handbook of Toxicologic Pathology* (pp. 1187–1258). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-415759-0.00039-X>
- He, Q., Riley, R. T., & Sharma, R. P. (2002). Pharmacological Antagonism of Fumonisin B 1 Cytotoxicity in Porcine Renal Epithelial Cells (LLC-PK 1): A Model for Reducing Fumonisin-Induced Nephrotoxicity in vivo. *Pharmacological & Toxicology*, 90, 268–277. <https://doi.org/10.1034/j.1600-0773.2002.900507.x>
- Iverson, F., Armstrong, C., Nera, E., Truelove, J., Fernie, S., Scott, P., Stapley, R., Hayward, S., & Gunner, S. (1995). *Chronic Feeding Study of Deoxynivalenol in B6C3F1 Male and Female Mice*.
- Jung, B., Lee, J., & Lee, B. (2012). Immunoprophylactic Effects of Shiitake Mushroom (*Lentinula edodes*) against *Bordetella bronchiseptica* in Mice. *The Journal of Microbiology*, 50(6), 1003–1008. <https://doi.org/10.1007/s12275-012-2365-1>

- Kechik, I. T., & Sykes, A. H. (1979). The effect of intestinal coccidiosis (*Eimeria acervulina*) on blood and tissue ascorbic acid concentrations. *British Journal of Nutrition*, 42(1), 97–103. <https://doi.org/10.1079/bjn19790093>
- Kim, D., Lee, I., Do, W., Nam, W., Li, H., & Jang, H. (2014). Incidence and Levels of Deoxynivalenol, Fumonisin and Zearalenone Contaminants in Animal Feeds Used in Korea in 2012. *Toxins*, 6, 20–32. <https://doi.org/10.3390/toxins6010020>
- Liu, B., Lu, Y., Chen, X., Muthuraj, P. G., Li, X., Pattabiraman, M., Zemleni, J., Kachman, S. D., Natarajan, S. K., & Yu, J. (2020). Protective role of shiitakemushroom-derived exosome-like nanoparticles in d-galactosamine and lipopolysaccharide-induced acute liver injury in mice. *Nutrients*, 12(2), 1–15. <https://doi.org/10.3390/nu12020477>
- López, R. (2016). “*EVALUACIÓN DE TRES SISTEMAS DE ALIMENTACIÓN SOBRE EL RENDIMIENTO PRODUCTIVO EN CUYES DE LA LÍNEA INTI, ANDINA Y PERÚ.*” Universidad Técnica de Ambato.
- Maaroufi, K., Chekir, L., Creppy, E. E., Ellouz, F., & Bacha, H. (1996). Zearalenone induces modifications of haematological and biochemical parameters in rats. *Toxicol*, 34(5), 535–540. [https://doi.org/10.1016/0041-0101\(96\)00008-6](https://doi.org/10.1016/0041-0101(96)00008-6)
- Mavrommatis, A., Giamouri, E., Tavrizelou, S., Zacharioudaki, M., Danezis, G., Simitzis, P. E., Zoidis, E., Tsiplakou, E., Pappas, A. C., Georgiou, C. A., & Feggeros, K. (2021). Impact of mycotoxins on animals’ oxidative status. *Antioxidants*, 10(2), 1–24. <https://doi.org/10.3390/antiox10020214>
- Michihiro, F., Ohashi, T., Fujiwara, Y., & Sonoyama, K. (2001). Cholesterol-Lowering Effects of Maitake (*Grifola frondosa*) Fiber, Shiitake (*Lentinus edodes*) Fiber, and Enokitake (*Flammulina velutipes*) Fiber in Rats. *Experimental Biology and Medicine*, 5(8), 758–766.
- Morales, D., Rutckeviski, R., Villalva, M., Abreu, H., Soler-Rivas, C., Santoyo, S., Iacomini, M., & Smiderle, F. R. (2020). Isolation and comparison of  $\alpha$ - and  $\beta$ -D-glucans from shiitake mushrooms (*Lentinula edodes*) with different biological activities. *Carbohydrate Polymers*, 229(October 2019), 115521. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.115521>
- NETKE, S. P., ROOMI, W., TSAO, C., & NIEDZWIECKI, A. (1997). Ascorbic Acid Protects Guinea Pigs from Acute Aflatoxin Toxicity 1. *TOXICOLOGY AND APPLIED PHARMACOLOGY*, 435(143), 429–435. <https://doi.org/10.1006/taap.1996.8091>
- Prathapkumar, S. H., Rao, V. S., Paramkishan, R. J., & Bhat, R. V. (1997). Disease outbreak in laying hens arising from the consumption of fumonisin - contaminated food. *British Poultry Science*, 38(3), 475–479. <https://doi.org/10.1080/00071669708418024>

- Reguła, J., & Siwulski, M. (2007). Dried Shiitake (*Lentinula Edodes*) and Oyster (*Pleurotus Ostreatus*) Mushrooms As a Good Source of Nutrient. *ACTA Sci. Pol., Technol. Aliment*, 6(4), 135–142.
- Rivera, O., Alabracín, W., & Lares, M. (2017). Componentes Bioactivos del Shiitake (*Lentinula edodes* Berk. Pegler) y su impacto en la salud. *Archivos Venezolanos de Farmacología y Terapéutica*, 36(3), 67–71.
- Rodriguez, N. (2014). *IDENTIFICACIÓN DE LOS PRINCIPALES HONGOS EN CEBADA (Hordeum vulgare L.) HIDROPÓNICA Y SU PATOGENESIS EN CUYES (Cavia porcellus L.)* [Universidad Nacional de Cajamarca].  
[https://repositorio.unc.edu.pe/bitstream/handle/20.500.14074/1949/T016\\_16680503\\_D.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://repositorio.unc.edu.pe/bitstream/handle/20.500.14074/1949/T016_16680503_D.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
- Ropejko, K., & Twarużek, M. (2021). Zearalenone and Its Metabolites—General Overview, Occurrence, and Toxicity. In *Toxins* (Vol. 13, Issue 1). MDPI.  
<https://doi.org/10.3390/TOXINS13010035>
- Schoevers, E., Colenbrander, B., & Roelen, B. (2010). Porcine Oocytes are Most Vulnerable to the Mycotoxin Deoxynivalenol During Formation of the Meiotic Spindle. *ResearchGate*, 74, 968–978.  
<https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2010.04.026>
- Shojadoost, B., Yitbarek, A., Alizadeh, M., Kulkarni, R. R., Astill, J., Boodhoo, N., & Sharif, S. (2021). Centennial Review: Effects of vitamins A, D, E, and C on the chicken immune system. *Poultry Science*, 100(4), 1–17.  
<https://doi.org/10.1016/j.psj.2020.12.027>
- Soroko, M., Górnaiak, W., Zielińska, P., Górnaiak, A., Śniegucka, K., Nawrot, K., & Korczyński, M. (2022). Effect of *Lentinula edodes* on Morphological and Biochemical Blood Parameters of Horses. *Animals*, 12(9).  
<https://doi.org/10.3390/ani12091106>
- Uchio, R., Hirose, Y., Murosaki, S., & Ishigami, A. (2019). High dietary Vitamin C intake reduces glucocorticoid-induced immunosuppression and measures of oxidative stress in Vitamin C-deficient senescence marker protein 30 knockout mice. *British Journal of Nutrition*, 122(10), 1120–1129.  
<https://doi.org/10.1017/S0007114519001922>
- Urquizo, M. (2016). *DETERMINACIÓN DE COSTOS PARA LA PRODUCCIÓN Y CRIANZA DE CUYES (Cavia porcellus) EN LA COMUNIDAD DE JALOA EL ROSARIO PERTENECIENTE AL CANTÓN QUERO PROVINCIA DEL TUNGURAHUA*. [Universidad Técnica de Ambato].
- Vetvicka, V., & Vetvickova, J. (2014). Anti-stress action of an orally-given combination of resveratrol,  $\beta$ -glucan, and vitamin C. *Molecules*, 19(9), 13724–13734. <https://doi.org/10.3390/molecules190913724>

- Vilcasana, I. (2017). “CONVERSIÓN ALIMENTICIA EN "CUYES COLORADOS EN ETAPA DE CRECIMIENTO CON UNA TERCERA PROGENIE DE CRUCE GENÉTICO DE TIPO ABSORVENTE” [UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI]. <http://repositorio.utc.edu.ec/bitstream/27000/5446/6/PC-000245.pdf>
- Walter, F. (1995). FUMONISINS: HISTORY, WORLD-WIDE OCCURRENCE AND IMPACT. *Medical Research Council*, 60(1), 1–17.  
[https://doi.org/10.1007/978-1-4899-1379-1\\_1](https://doi.org/10.1007/978-1-4899-1379-1_1)
- Xu, C., HaiYan, Z., JianHong, Z., & Jing, G. (2008). The pharmacological effect of polysaccharides from *Lentinus edodes* on the oxidative status and expression of VCAM-1mRNA of thoracic aorta endothelial cell in high-fat-diet rats. *Carbohydrate Polymers*, 74(3), 445–450.  
<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2008.03.018>
- Zahra, N., Jamil, N., Ahmad, S. R., Saeed, M. K., Kalim, I., & Sheikh, A. (2019). A review of mycotoxin types, occurrence, toxicity, detection methods and control. *Pakistan Journal of Scientific and Industrial Research Series B: Biological Sciences*, 62(3), 206–218.  
<https://doi.org/10.52763/pjsir.biol.sci.62.3.2019.206.218>

# ANEXOS

## Anexo 1: Tabla de examen de micotoxinas



### INFORME DE ENSAYO



Nº de Referencia: <b>AL-20/122301</b>	Registrada en: AGQ Ecuador	Cliente(*):
Análisis: SAI-CO-0006	Centro Análisis: AGQ España	Domicilio (*):
Tipo Muestra: <b>MAIZ</b>	Fecha Recepción: 21/11/2022	Contrato: EC20-2553
Fecha Inicio: 25/11/2022	Fecha Fin: 26/11/2022	Cliente 3º(*): ---
Descripción(*):		

Fecha/Hora Muestreo: 17/11/2022	Muestreado por: Michael Molina
---------------------------------	--------------------------------

A continuación se exponen el Informe de Ensayo y Anexo Técnico asociados a la muestra, en los cuales se pueden consultar toda la información relacionada con los ensayos realizados.

Los Resultados emitidos en este informe, no han sido corregidos con factores de recuperación. Siguiendo el protocolo recogido en nuestro manual de calidad, AGQ guardará bajo condiciones controladas la muestra durante un periodo determinado después de la finalización del análisis. Una vez transcurrido este periodo, la muestra será eliminada. Si desea información adicional o cualquier aclaración, no dude en ponerse en contacto con nosotros.



**Adria Hidalgo Soria**

FECHA EMISIÓN: 18/11/2022

OBSERVACIONES (\*):  
Muestra de Maiz

Labo & Technological Services AGQ, S.L.  
A-9014, km. 20.8 43220 Bugullos, Sevilla, España
T: (+34) 955 788 908
analicen@agqlabs.es
agqlabs.es



### INFORME DE ENSAYO



Nº de Referencia: <b>AL-20/122301</b>	Tipo Muestra: <b>MAIZ</b>
Descripción(*):	Fecha Fin: <b>26/11/2022</b>

RESULTADOS ANALITICOS				
Parámetro	Resultado	Unidades	Incert	CMA
<b>Micotoxinas</b>				
Aflat. B1+B2+G1+G2 (Suma)	< 1,00	µg/kg	-	
Aflatoxina B1	< 1,00	µg/kg	-	
* Aflatoxina B1 (% Recup)	68,0		-	
Aflatoxina B2	< 1,00	µg/kg	-	
* Aflatoxina B2 (% Recup)	62,0		-	
Aflatoxina G1	< 1,00	µg/kg	-	
* Aflatoxina G1 (% Recup)	67,0		-	
Aflatoxina G2	< 1,00	µg/kg	-	
* Aflatoxina G2 (% Recup)	62,0		-	
Deoxivalenol	1500	µg/kg	±26%	
Fumonisina B1	1500	µg/kg	±26%	
Fumonisina B2	450	µg/kg	±26%	
Fumonisinas (B1+B2)	< 150	µg/kg	-	
Ocratoxina A	< 3,00	µg/kg	-	
* Ocratoxina A (%Recup)	133	%	-	
Toxina HT2	< 500	µg/kg	-	
Toxina T2	< 500	µg/kg	-	
Zearalenona	150	µg/kg	±26%	

Nota: Los Resultados de este informe solo afectan a la muestra tal como es recibida en el laboratorio. Queda prohibida la reproducción parcial de este informe. Los intervalos de los parámetros acreditados están calculados y a disposición del cliente. AGQ no se hace responsable de la información proporcionada por el cliente, asociada a la toma de muestras y a otros datos descriptivos, marcados con (\*). A: Ensayo subcontratado y acreditado. N: Ensayo subcontratado y no acreditado. RE: Recuento en placa estimado. La Incertidumbre aplicada al resultado no aplica para valores menores al Límite de Cuantificación (LC).  
(2) Ensayo cubierto por la Acreditación nº TL-475 emitida por IAS.  
(&) Ensayo No cubierto por la Acreditación nº TL-475 emitida por IAS.

## Anexo 2: Prueba T para revisar la homogeneidad de los pesos

### Prueba T para muestras Independientes

Clasific	Variable	Grupo 1	Grupo 2	n(1)	n(2)	Media(1)	Media(2)	Media(1)-Media(2)	LI(95)	LS(95)	pHomVar	T	p-valor	prueba
Tratamientos	Peso Dia 1	{T1}	{T2}	4	4	240,75	255,75	-15,00	-33,52	3,52	0,5268	-1,98	0,0948	Bilateral
Tratamientos	Peso Dia 1	{T1}	{T3}	4	4	240,75	259,75	-19,00	-36,86	-1,14	0,4079	-2,60	0,0405	Bilateral
Tratamientos	Peso Dia 1	{T2}	{T3}	4	4	255,75	259,75	-4,00	-17,72	9,72	0,8385	-0,71	0,5025	Bilateral

## Anexo 3: ANAVA para peso día 1

### Peso Dia 1

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Peso Dia 1	12	0,49	0,37	3,86

### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	802,67	2	401,33	4,24	0,0505
Tratamientos	802,67	2	401,33	4,24	0,0505
Error	852,25	9	94,69		
Total	1654,92	11			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=19,21160

Error: 94,6944 gl: 9

Tratamientos	Medias	n	E.E.
T3	259,75	4	4,87 A
T2	255,75	4	4,87 A
T1	240,75	4	4,87 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

## Anexo 4: ANAVA para peso día 14

### Peso día 14

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Peso día 14	12	0,84	0,81	3,31

### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	4413,50	2	2206,75	24,50	0,0002
Tratamientos	4413,50	2	2206,75	24,50	0,0002
Error	810,50	9	90,06		
Total	5224,00	11			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=18,73512

Error: 90,0556 gl: 9

Tratamientos	Medias	n	E.E.
T3	304,25	4	4,74 A
T2	296,50	4	4,74 A
T1	260,25	4	4,74 B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

## Anexo 5: ANAVA para peso día 21

### Peso día 21

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Peso día 21	12	0,82	0,78	3,32

### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	4452,17	2	2226,08	20,30	0,0005
Tratamientos	4452,17	2	2226,08	20,30	0,0005
Error	986,75	9	109,64		
Total	5438,92	11			

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=20,67205

Error: 109,6389 gl: 9

Tratamientos	Medias	n	E.E.
T3	332,00	4	5,24 A
T2	324,75	4	5,24 A
T1	288,00	4	5,24 B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

## Anexo 6: ANAVA de ganancia de peso

### GP

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
GP	12	0,93	0,92	5,40

### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	1478,17	2	739,08	64,27	<0,0001
Tratamientos	1478,17	2	739,08	64,27	<0,0001
Error	103,50	9	11,50		
Total	1581,67	11			

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=6,69499

Error: 11,5000 gl: 9

Tratamientos	Medias	n	E.E.
T3	72,25	4	1,70 A
T2	69,00	4	1,70 A
T1	47,25	4	1,70 B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

## Anexo 7: ANAVA consumo de alimento

### Análisis de la varianza

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Consumo de alimento	12	0,74	0,68	2,55

### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	104709,16	2	52354,58	12,81	0,0023
tratamiento	104709,16	2	52354,58	12,81	0,0023
Error	36794,89	9	4088,32		
Total	141504,05	11			

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=126,23325

Error: 4088,3208 gl: 9

tratamiento	Medias	n	E.E.
T1	2634,28	4	31,97 A
T3	2463,30	4	31,97 B
T2	2417,10	4	31,97 B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

## Anexo 8: ANAVA de conversión alimenticia

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Ca	12	0,91	0,89	8,67

### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	12,55	2	6,27	47,75	<0,0001
tratamiento	12,55	2	6,27	47,75	<0,0001
Error	1,18	9	0,13		
Total	13,73	11			

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,71559

Error: 0,1314 gl: 9

tratamiento	Medias	n	E.E.
T1	5,63	4	0,18 A
T2	3,51	4	0,18 B
T3	3,41	4	0,18 B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

l

**Anexo 9: Lesiones macroscópicas encontradas en cobayos del tratamiento 1**

	Hígado					Pulmón				Bazo			Riñón				
	Congestión	Zonas blancas	Petequias	Hematomas subcapsulares	Vesícula biliar dilatada	Focos hemorrágicos	Granulomas	Manchas oscuras	Congestión	Atrofia esplénica	Zonas oscuras	Color oscuro	Congestión	Focos hemorrágicos	Color pálido	Zonas opacas	Degeneración parenquimatosa
A1		x	X						x		x					x	
A8		x		x		x					x		x				
A7	X				x				x	x	x						X
B7	X				x				x		x					x	X
B9	X				x				x		x		x				
B10	X				x				x		x		x				
B8				x	x		x		x							x	X
B2	X				x				x	x			x				
C6	X				x				x		x		x				
C3	X						x		x					x		x	
C1	X				x				x	x			x				
C4	X				x				x		x		x				
D4	X				x				x							x	X
D8	X				x				x		x		x				
D3		x		x		x	x									x	X

**Anexo 10: Lesiones macroscópicas encontradas en cobayos del tratamiento 2**

	Hígado					Pulmón				Bazo			Riñón				
	Congestión	Zonas blancas	petequias	Hematomas subcapsulares	Vesícula biliar dilatada	Focos hemorrágicos	Granulomas	Manchas oscuras	Congestión	Atrofia esplénica	Zonas oscuras	Color oscuro	Congestión	Focos hemorrágicos	Color pálido	Zonas opacas	Degeneración parenquimatosa
A9				X		x											X
A2				X					x								X
A8				X		x								x		x	
A5				X					x								X
B3				X	x				x	x						x	X
B5	X					x				x				x			X
B7				X	x				x					x			x
B8				X	x	x				x						x	x
C7				X	x	x					x						x
C2	X					x					x			x		x	
C3						x								x		x	
C4	X				x				x							x	
D5	X				x				x								x
D9	X					x					x					x	
D1	X								x	x				x		x	

### Anexo 11: Lesiones macroscópicas encontradas en cobayos del tratamiento 3

	Hígado					Pulmón				Bazo			Riñón				
	Congestión	Zonas blancas	Petequias	Hematomas subcapsulares	Vesícula biliar dilatada	Focos hemorrágicos	Granulomas	Manchas oscuras	Congestión	Atrofia esplénica	Zonas oscuras	Color oscuro	Congestión	Focos hemorrágicos	Color pálido	Zonas opacas	Degeneración parenquimatosa
A1				X	x										x	x	
A2					x												x
A6				X	x	X					x			x			
A5					x				x		x			x			x
B5				X		X										x	
B3				X		x			X								x
C1					x	x								x			x
C4				X	x	x			X							x	x
C8	x								x							x	x
C9					x				x								x
C10					x				x								x
D4				X		x					x						x
D1				X					x								x
D9				X	x				x								x
D7					x				x							x	

## Anexo 12: Disecado de los hongos



## Anexo 13: Almacenamiento del maíz y resultado



## Anexo 14: Construcción de jaulas



## Anexo 15: Pesaje de los cobayos





### Anexo 16: Manejo del alimento



### Anexo 17: Fotografías de la necropsia y envío de muestras al laboratorio





### Anexo 18: fotografías de lesiones macroscópicas



Hígado congestionado



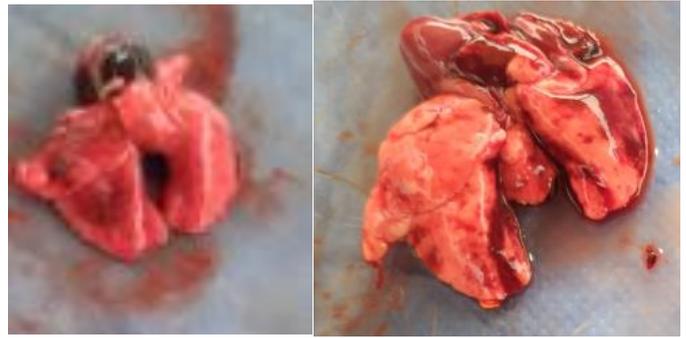
Comparación de la coloración y aspecto entre hígado de T1 y T3



Hígado con focos



Pulmón congestionado



Focos hemorrágicos



Pulmón con granulomas



Riñón de coloración pálida



Riñones congestionados



Riñón con zonas opacas



Comparación entre un riñón de T1 y T3



Diferencia de tamaño del bazo

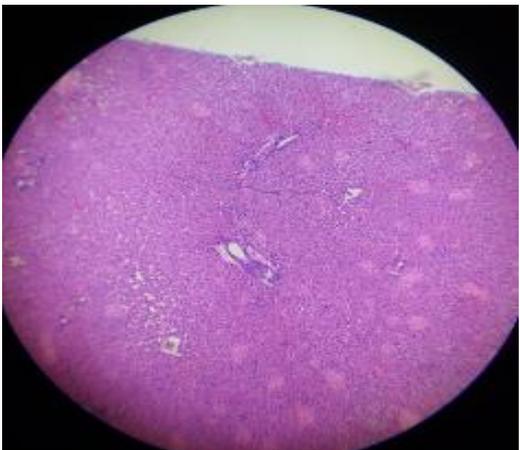
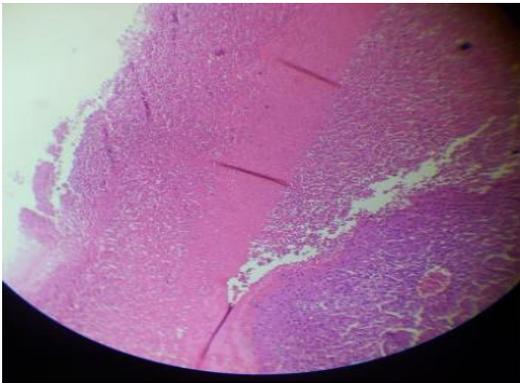
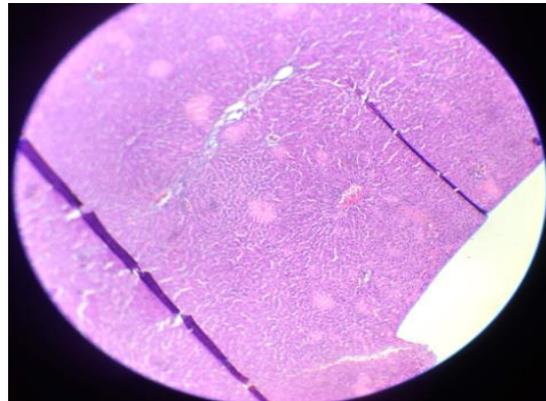
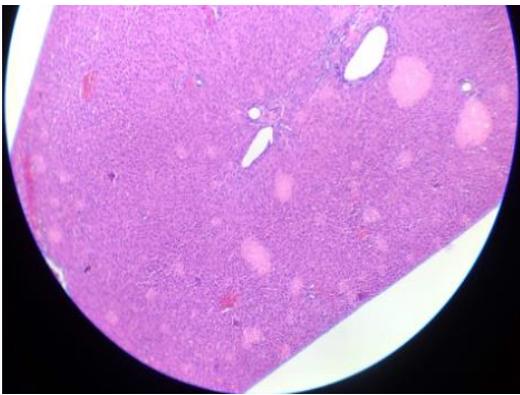


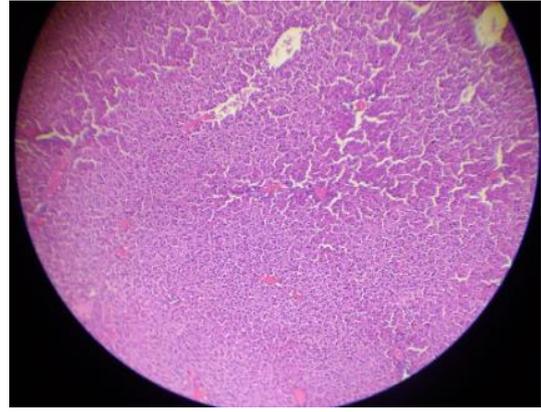
Zonas oscuras en el bazo



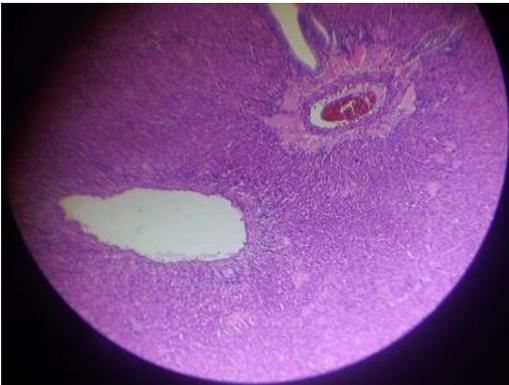
Diferencia de tamaño entre T1 y T3

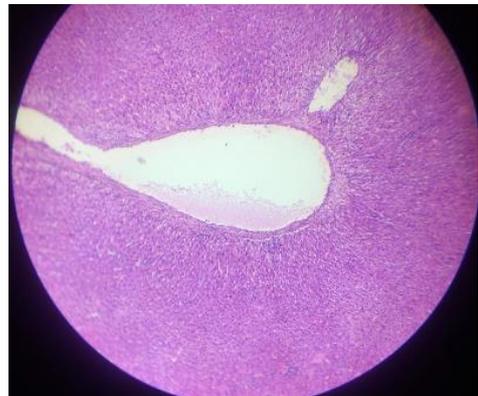
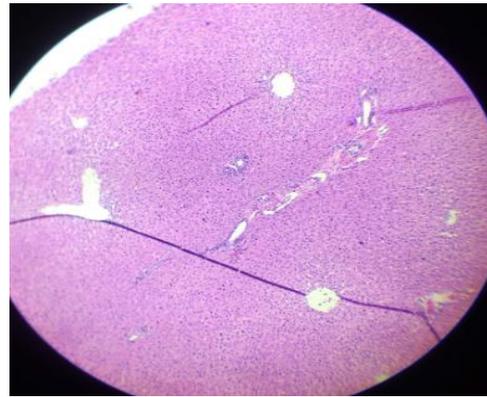
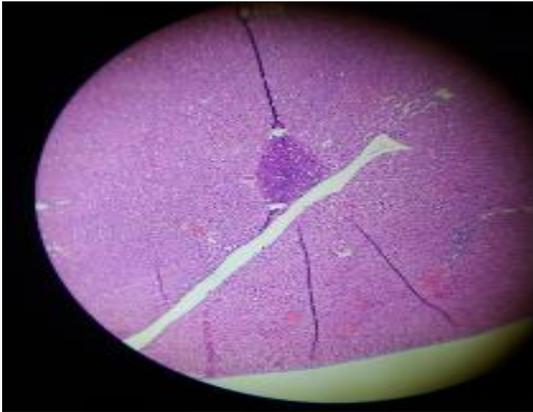
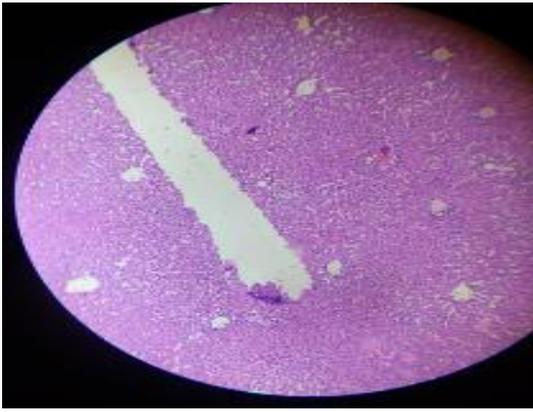
**Anexo 19: fotografías de cortes histopatológicos de hígado en cobayos de T1**





**Anexo 20: Fotografías de cortes histopatológicos de hígado en cobayos de T2**





**Anexo 21: Fotografías de cortes histopatológicos de hígado en cobayos de T3**

