# Efecto de una mezcla probiótica en el comportamiento microbiológico en pollos de ceba.

# Effect of a probiótic mix on microbiological behavior in broilers.

Leila Estefanía Vera Loor<sup>1,\*</sup>; María Elizabeth Cedeño Hernández<sup>1,+</sup>; Liceth Janina Solórzano Zambrano<sup>2,++</sup>; Mario Javier Bonilla Loor<sup>2,§</sup>; <sup>1</sup>Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí-Manuel Félix López. <sup>2</sup>Universidad Técnica de Manabí. {leila.vera@espam.edu.ec, romely-20@hotmail.com, ljsolorzano@utm.edu.ec, mbonilla@utm.edu.ec}

Fecha de recepción: 28 de septiembre de 2018 — Fecha de revisión: 16 de octubre de 2018

Resumen: En el presente estudio evaluó el efecto de una mezcla probiótica (Lactobacillus salivarius y Bacillus subtillis) en el en el comportamiento de los indicadores microbiológicos, en pollos hembras y machos de ceba, mediante un diseño completamente aleatorizado con cuatro tratamientos (T1: testigo; T2: 0,5 ml de Bacillus subtillis y 0,5 mL de Lactobacillus salivarius de biopreparado por cada litro de agua; T3: 0,5 ml de Bacillus subtillis y 1 mL de Lactobacillus salivarius de biopreparado por cada litro de agua; T4: 0,5 ml de Bacillus subtillis y 1,5 mL de Lactobacillus salivarius de biopreparado por cada litro de agua) y con cuatro repeticiones por tratamiento. Se analizó el comportamiento microbiológico en coliformes, Lactobacillus, endosporas de Bacillus, y Bacillus. Los resultados demostraron que la mezclas de los prebióticos influyeron positivamente en los indicadores microbiológicos en pollos de ceba, resultando como mejor tratamiento el T4.

Palabras clave — Probiótico, pollos de engorde, microbiología y eficiencia.

Abstract: To evaluate the effect of a probiotic mixture (Lactobacillus salivarius and Bacillus subtillis) on productive performance and carcass yield, female and male chickens were used. A Completely Randomized Design was applied with four treatments (T1: control; T2: 0,5 ml of Bacillus subtillis and 0.5 ml of bioprepared Lactobacillus salivarius per liter of water, T3: 0.5 ml of Bacillus subtillis and 1 ml of bioprepared Lactobacillus salivarius per liter of water, T4: 0.5 ml of Bacillus subtillis and 1.5 mL of bioprepared Lactobacillus salivarius per liter of water) and with four repetitions per treatment. The productive performance was evaluated in the indicators of efficiency, live weight, feed consumption, feed conversion, carcass weight, abdominal fat weight, and carcass yield. The results showed that the mixtures of the probiotics positively influenced the microbiological indicators in broilers, resulting in the best treatment for T4.

Keywords — Probiotic, broiler, microbiology and efficiency.

#### Introducción

a producción de pollos de ceba se rige por L'diferentes factores como el ambiente, la nutrición, el manejo y la composición genética (Oviedo-Rondón, 2009), por lo cual necesario un ambiente y nutrición adecuados para un mejor desempeño de los pollos de ceba. No obstante, la fisiología de las aves, su complejo sistema respiratorio y digestivo las hace susceptibles al crecimiento bacteriano patógeno causando un sinnúmero de enfermedades (Martínez, 2014), aspectos que disminuyen la productividad de las granjas y explotaciones intensivas donde aparecen patologías como: E. coli, Salmonella y Pseudomonas. Todas éstas producen pérdidas de importantes inversiones económicas de los productores debido al elevado precio de los antibióticos utilizados en aves.

<sup>\*</sup>Magíster en Producción Animal.

Médico Veterinario.

<sup>&</sup>lt;sup>++</sup>Doctora de Investigación en Ciencias Agrarias, Alimentarias y

<sup>§</sup>Doctor de Investigación en Ciencias Agrarias, Alimentarias y Agro-Ambientales.

Una solución han sido los antibióticos que se han utilizado durante mucho tiempo para mantener las enfermedades controladas, sin embargo, existen antibióticos pueden matar parcialmente a la población bacteriana, incluyendo las bacterias beneficiosas del intestino. Estas bacterias son importantes y son conocidas por su labor esencial en mantener saludables a los animales (Abad-Guamán et al., 2018; Chávez et al., 2016). Por otra parte, los antibióticos utilizados en animales tienen un impacto negativo en la salud de las personas que consumen estos animales, muchos de estos residuos producen resistencia en el organismo. Los nuevos avances técnicos y las leyes internacionales prohíben el uso de antibióticos en animales destinados al consumo humano (García, 2018). En Europa la nueva tendencia en alimentación humana y animal es el uso de probióticos, que son bacterias benéficas que ayudan a mejorar la flora bacteriana de quien lo ingiera, mejorando las conversiones alimenticias y disminuyendo el uso de fármacos en las granjas.

En la actualidad varios estudios han evidenciado que los probióticos pueden mejorar el rendimiento, la digestibilidad de los nutrientes, la inmunidad, la ecología de la microflora intestinal, y la inhibición de patógenos en aves (Ghadban, 2002; Li et al., 2008; Teo & Tan 2007; Yu et al., 2008; Mountzouris et al., 2009).

El presente trabajo informa sobre el efecto de la actividad probiótica de la mezcla de dos biopreparados Lactobacillus salivarius y Bacillus subtillis sobre indicadores microbiológicos en pollos de ceba.

### Materiales y Métodos

#### Ubicación

Esta investigación se ejecutó en el sitio Las Mercedes del cantón Bolívar en la provincia de Manabí que está ubicada a 0°, 50` 39`` de latitud sur y 80°, 9`y 33`` de longitud oeste.

#### Diseño Experimental

Las unidades experimentales de cada grupo se distribuyeron bajo un Diseño Completamente al Azar (DCA) con 4 repeticiones y cada repetición conformaba una unidad experimental, tratamientos fueron 4 (ver cuadro N° 2) y cada unidad experimental fue conformada por 25 pollos de ceba de la línea genética Ross 308. Se utilizaron pollos desde el día de nacimiento, hasta la sexta semana donde se concluyó el experimento tomando como referencia 42 días como un periodo que regularmente es usado para la venta.

Tabla 1. Esquema del experimento

TRATAMIENTO	RÉPLICAS	UNIDAD EXPERIMENTAL	TOTAL UE
1	4	4	16
2	4	4	16
3	4	4	16
4	4	4	16

Los tratamientos fueron conformados por 3 dosis de biopreparados más el grupo testigo, mismos que se suministraron en el agua de bebida, los cuales fueron:T1: testigo; T2: 0,5 ml de Bacillus subtillis y 0,5 mL de Lactobacillus salivarius de biopreparado por cada litro de agua; T3: 0,5 ml de Bacillus subtillis y 1 mL de Lactobacillus salivarius de biopreparado por cada litro de agua; T4: 0,5 ml de Bacillus subtillis y 1,5 mL de Lactobacillus salivarius de biopreparado por cada litro de agua (ver tabla N° 2).

Tabla 2. Descripción de los tratamientos

TRATAMIENTOS		REPETICIONES			
		II	III	IV	
T1: Testigo. Agua pura, sin antibióticos ni enzimas	25	25	25	25	
T2: 0,5 ml. <i>Bacillus subtilis</i> /0.5 ml <i>Lactobacillus salivarius</i> /L	25	25	25	25	
T3: 1 ml. <i>Bacillus subtilis</i> /0.5 ml <i>Lactobacillus salivarius</i> /L	25	25	25	25	
T4: 1,5 ml. <i>Bacillus subtilis</i> /0.5 ml <i>Lactobacillus salivarius</i> /L	25	25	25	25	

#### MÉTODOS DE INVESTIGACIÓN

A los 28, 35 y 42 días se tomaron muestras del contenido cecal (16 g) de 16 pollos por tratamiento. Las mismas se homogenizaron en 90 mL de agua peptonada para Lactobacillus y en SSE (Solución Salina Estéril) para los demás grupos microbianos.

Para realizar el conteo de los diferentes grupos microbianos se emplearon los medios selectivos de Endosporas de Bacillus spp: Agar-nutriente, Coliformes Fecales: Agar Macconkey (MERCK); Lactobacillus: Agar MRS (MERCK); y Bacillus spp: Agar Nutriente (MERCK).

Para Coliformes se hicieron diluciones 10<sup>-1</sup> hasta 10<sup>-6</sup>, para los grupos de *Bacillus* y anaerobios totales las diluciones fueron desde 10<sup>-1</sup> hasta 10<sup>-12</sup>, para Lactobacillus desde 10<sup>-1</sup> hasta 10<sup>-11</sup>, para endosporas de Bacillus spp hasta 10-8.

## ANÁLISIS DE DATOS

Los datos se tabularon en Microsoft Excel 2016, para el procesamiento de los datos se utilizó el paquete estadístico Minitab 18, se realizó un análisis de varianza (ANOVA) para determinar la existencia de diferencia significativa estadística en el promedio de los puntajes asignados a las muestras y en las medias que mostraron diferencias estadísticas significativas se aplicó el test de Tukey con una confianza de 95%.

# RESULTADOS

Respecto al análisis de coliformes fecales en el primer muestro se observaron diferencias estadísticas entre los tratamientos (ver tabla N°3), siendo T1(testigo) el tratamiento con mayor cantidad de coliformes fecales (55 colonias por mL), mientras, que el T4 (1.5 ml. Bacillus subtillis/0.5 ml Lactobacillus salivarius/L) reporto 6 colonias por mL (ver cuadro N°1); En el segundo muestreo realizado en la quinta semana también se evidenció la mayor concentración de coliformes fecales en el T1 con diferencias estadísticas significativas; En el tercer muestreo se puede observar que el contenido de coliformes totales disminuyó respecto a las anteriores semanas en todos los tratamientos, no se observaron diferencias estadísticas entre los tratamientos.

Cuadro Nº 1. Conteo de Coliformes Fecales

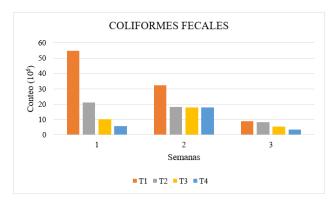


Tabla Nº 3. Comparación múltiple de medias del conteo de Coliformes Fecales, mediante el método de Tukey con una confianza del 95%.

DÍAS	T1	T2	Т3	T4
28	55 x 10 <sup>6</sup> a	21 x 10 <sup>6</sup> b	10 x 10 <sup>6</sup> c	6 x 10 <sup>6</sup> c
35	33 x 10 <sup>6</sup> a	18 x 10 <sup>6</sup> b	18 x 10 <sup>6</sup> b	18 x 10 <sup>6</sup> b
42	9 x 10 <sup>6</sup> a	8 x 10 <sup>6</sup> a	5 x 10 <sup>6</sup> a	4 x 10 <sup>6</sup> a

En los tres muestreos realizados durante la investigación, se observaron diferencias estadísticas entre tratamientos (ver tabla N°4); a los 28 días, se evidenciaron los valores más altos de endosporas de bacillus en el tratamiento T4 con 26 colonias por mL; en la segundo muestreo se observó mayor concentración de endosporas de bacillus, seguido del T2 (T2: 0,5 ml. Bacillus subtillis/0.5 ml Lactobacillus salivarius/L); mientras, que a los 42 días se observó en los tratamientos un una tendencia similar a la de los 28 días, siendo el T4 el tratamiento con más concentración de colonias (ver cuadro N°2), sin embargo, fue estadísticamente igual al T3 (T3: 0,5 ml de Bacillus subtillis y 1 mL de Lactobacillus salivarius de biopreparado por cada litro de agua) y T2 con 17,3 y 15,5 de colonias por mL respectivamente.

Cuadro Nº 2. Conteo de Endosporas.

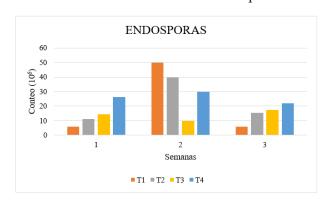


Tabla Nº 4. Comparación múltiple de medias del conteo de Endosporas, mediante el método de Tukey con una confianza del 95%.

DÍAS	T1	<b>T2</b>	Т3	T4
4	6 x 10 <sup>6</sup> c	11x 10 <sup>6</sup> bc	14 x 10 <sup>6</sup> b	26 x 10 <sup>6</sup> a
5	50 x 10 <sup>6</sup> a	40 x 10 <sup>6</sup> b	10 x 10 <sup>6</sup> d	30 x 10 <sup>6</sup> c
6	6 x 10 <sup>6</sup> b	16 x 10 <sup>6</sup> ab	17 x 10 <sup>6</sup> a	22 x 10 <sup>6</sup> a

Respecto a la concentración de Bacillus, el análisis estadístico determinó diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos en todos los muestreos realizados (ver tabla N° 5); a los 28 días se observó que el mayor contenido fue para el T4 con 178 colonias por mL, seguido del T3, T2 Y T1 con categorías estadísticas diferentes para cada tratamiento, sin embargo, a los 35 días a pesar de que el tratamiento T4 obtuvo mayor concentración de Bacillus solo se establecieron dos categorías estadísticas y los T3,T2 Y T1 comparten la misma categoría; finalmente a los 42 días se observó una tendencia similar a los 28 días pero en menor proporción (ver cuadro N° 3).

Cuadro Nº 3. Conteo de Bacillus

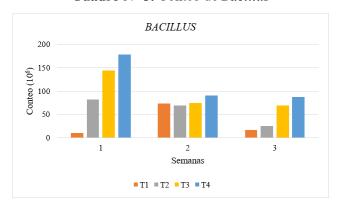


Tabla Nº 5. Comparación múltiple de medias del conteo de Bacillus, mediante el método de Tukey con una confianza del 95%.

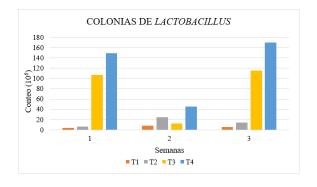
DÍAS	T1	T2	Т3	T4
4	11 x 10 <sup>6</sup> d	82 x 10 <sup>6</sup> c	144 x 10 <sup>6</sup> b	178 x 10 <sup>6</sup> a
5	74 x 10 <sup>6</sup> b	69 x 10 <sup>6</sup> b	75 x 10 <sup>6</sup> b	91 x 10 <sup>6</sup> a
6	17 x 10 <sup>6</sup> c	25 x 10 <sup>6</sup> c	69 x 10 <sup>6</sup> b	88 x 10 <sup>6</sup> a

El análisis estadístico de las medias del conteo de Lactobacilos (bacterias ácido lácticas), estableció diferencias estadísticas en todas las muestras evaluados (ver tabla N°6), siendo el T4 el tratamiento con mayor concentración de bacterias ácidos lácticas, además, a los 28 y 42 días el T4 presentó una diferencia muy marcada en relación a los demás tratamientos (ver cuadro N° 4).

**Tabla Nº 6.** Comparación múltiple de medias del conteo de Lactobacillus, mediante el método de Tukey con una confianza del 95%.

DÍAS	T1	T2	Т3	T4
4	4 x 10 <sup>6</sup> c	6 x 10 <sup>6</sup> c	107 x 10 <sup>6</sup> b	149 x 10 <sup>6</sup> a
5	8 x 10 <sup>6</sup> c	24 x 10 <sup>6</sup> b	13 x 10 <sup>6</sup> c	45 x 10 <sup>6</sup> a
6	5 x 10 <sup>6</sup> c	14 x 10 <sup>6</sup> c	116 x 10 <sup>6</sup> b	170 x 10 <sup>6</sup> a

Cuadro Nº 4. Conteo de Lactobacillus



#### CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

La aplicación de prebióticos en la alimentación de pollos de ceba demostró efectos positivos sobre los indicadores microbiológicos, en particular el T4 (1,5 ml. Bacillus subtillis/0.5 ml Lactobacillus salivarius/L).

Se observó que a mayor concentración de prebióticos se obtuvieron mejores resultados, por lo cual se sugiere realizar futuras investigaciones utilizando dosis de los biopreparados más elevadas.

Además, se recomienda realizar este tipo de investigaciones con otras variables, como el criar los pollos en piso a nivel, ya que se puede evaluar la efectividad de la mezcla probiótica frente a otros agentes bacterianos comunes del piso.

#### **BIBLIOGRAFÍA**

- Abad-Guamán, R. M., Capa-Morocho, M., Yunga, V. H., Herrera, R. H., & Sánchez, G. E. (2018). Cambios en el microbiota intestinal de las aves y sus implicaciones prácticas. Centro de Biotecnología, 6(1).
- Chávez, L. A., López, A., & Parra, J. E. (2016). Crecimiento y desarrollo intestinal de aves de engorde alimentadas con cepas probióticas. *Archivos de zootecnia*, *65*(249), 51-58.
- García, L.A. (2018). Escherichia coli, Enterococcus spp. y Staphylococcus spp. en mamíferos y aves salvajes. Diversidad de especies y resistencia a los antibióticos (Doctoral dissertation, Universidad de Zaragoza).
- Ghadban, G. S. (2002). Probiotics in broiler production-a review. Archiv fur Geflugelkunde, 66(2), 49-58.
- Li, L. L., Hou, Z. P., Li, T. J., Wu, G. Y., Huang, R. L., Tang, Z. R., & Pan, E. (2008). Effects of dietary probiotic supplementation on ileal digestibility of nutrients and growth performance in 1-to 42-dayold broilers. Journal of the Science of Food and *Agriculture*, 88(1), 35-42.
- Martínez, R. (2014). Bases fisiológicas para el uso de antibióticos promotores de crecimiento preventivo en enfermedades bacterianas intestinales en cerdos y aves. Publicación trimestral de actualización científica y tecnológica-Virbac al día, edición, (20).
- Mountzouris, K. C., Balaskas, C., Xanthakos, I., Tzivinikou, A., & Fegeros, K. (2009). Effects

- of a multi-species probiotic on biomarkers of competitive exclusion efficacy in broilers challenged with Salmonella enteritidis. *British* poultry science, 50(4), 467-478.
- Navarro, A. (2007). Antibióticos de uso veterinario y su relación con la seguridad alimentaria y salud pública.
- Oviedo-Rondón, E. O. (2009). Aspectos nutricionales que influyen sobre la incidencia de problemas de patas en pollos de engorde. Curso de Especialización FEDNA: Avances in Nutrición y Alimentación Animal. 2099b.
- Teo, A. Y., & Tan, H. M. (2007). Evaluation of the performance and intestinal gut microflora of broilers fed on corn-soy diets supplemented with Bacillus subtilis PB6 (CloSTAT). *Journal of Applied Poultry Research*, 16(3), 296-303.
- Yu, B., Liu, J. R., Hsiao, F. S., & Chiou, P. W. S. (2008). Evaluation of Lactobacillus reuteri Pg4 strain expressing heterologous β-glucanase as a probiotic in poultry diets based on barley. *Animal feed science and technology*, 141(1-2), 82-91.