

01673



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

3^{er.}

**FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACION**

**EL EFECTO DEL *Bacillus toyoi* SOBRE EL COMPORTAMIENTO
PRODUCTIVO EN POLLOS DE ENGORDA Y
COMPOSICION DE LA CANAL.**

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:
MAESTRO EN PRODUCCION ANIMAL: AVES
P R E S E N T A :
MVZ. ARTURO CORTES CUEVAS

ASESORES: MSc. ERNESTO AVILA GONZALEZ.
MC. MARIA TERESA CASAUBON HUGUENIN.
MPA. SILVIA CARRILLO DOMINGUEZ.



MEXICO, D. F.

268465

1998.

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

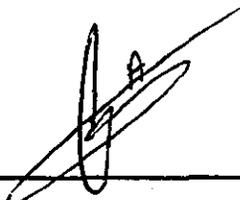
DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

DECLARACION

Doy mi consentimiento a la División de Estudios de Posgrado e Investigación de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México para que esta tesis esté disponible para cualquier tipo de reproducción e intercambio bibliotecario.



MVZ. Arturo Cortes Cuevas

DEDICATORIAS

En memoria de mi padre Miguel Cortes Carriché
Por su inolvidable nobleza y su riqueza como padre de familia

A mi madre Eulalia Cuevas León
Por su amor y comprensión de toda la vida

En forma muy especial a mi hermano Armando Cortes Cuevas
Por su grandeza como hermano y como persona, gracias por tu gran apoyo de siempre

A mi esposa Liliana Iván Berrios
Por su amor, comprensión y paciencia

A mis Hijos Erick y Arturo
Por ser lo más hermoso que dios me ha dado

A mis hermanos Fernando, Joel, Ma. De Jesus, Arnulfo, Antonio, Ernesto, Miguel, Alfredo y Alberto
Por su amistad y grandes consejos

A todos mis sobrinos
Por su alegría y respeto

Gracias por todo lo que han hecho por mí

AGRADECIMIENTOS

A Dios por el bienestar y salud que siempre me ha dado

Al Centro de Enseñanza, Investigación y Extensión en Producción Avícola de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM. Quien me brindó las facilidades en la realización de los trabajos de investigación de mi tesis

Al Laboratorio del Departamento de Nutrición Animal del Instituto de la Nutrición "Salvador Zubirán" Por el apoyo incondicional en la elaboración de los trabajos de laboratorio para la realización de esta tesis

Al MVZ. Federico Sánchez Carrillo, por su colaboración en los trabajos de investigación

A mis asesores Dr. Ernesto Avila González, MC. Ma. Teresa Casaubon Huguenin y la MPA. Silvia Carrillo Domínguez, por su esmerado apoyo y asesoría en la culminación de esta tesis

En especial al Dr. Ernesto Avila González, por sus enseñanzas, amistad y su gran apoyo incondicional durante mi formación profesional

A todos muchas gracias

CONTENIDO	PAGINA
RESUMEN -----	1
SUMMARY -----	3
INTRODUCCIÓN -----	5
JUSTIFICACIÓN -----	22
OBJETIVOS -----	23
HIPOTESIS -----	24
MATERIAL Y METODOS -----	25
RESULTADOS -----	32
DISCUSION -----	36
CONCLUSIONES -----	43
LITERATURA CITADA -----	44

LISTA DE CUADROS Y FIGURAS	PAGINA
Cuadro 1. Composición de las dietas experimentales basales empleadas en pollos de engorda en los tres experimentos.	53
Cuadro 2. Calendario de vacunación empleado en los tres experimentos.	54
Cuadro 3. Resultados de parámetros productivos en 49 días de edad en pollos de engorda bajo 2 sistemas de alimentación con y sin toyocerina (Exp. 1)	55
Cuadro 4. Porcentajes de mortalidad a los 49 días de edad bajo 2 sistemas de alimentación con y sin adición de toyocerina (Exp. 1)	56
Cuadro 5. Coloración de la piel de la pechuca a los 49 días de edad en pollos bajo 2 sistemas de alimentación con y sin toyocerina (Exp. 1)	57
Cuadro 6. Parámetros productivos obtenidos con diferentes niveles de toyocerina en pollos de engorda de 0 a 49 días de edad (Exp. 2).	58
Cuadro 7. Parámetros productivos obtenidos con diferentes niveles de toyocerina en pollos de 0 a 49 días de edad (Exp. 3).	59
Cuadro 8. Resultados de pigmentación en la piel y porcentajes de rendimiento en la canal y pechuga de pollos en 49 días de edad ((Exp. 3).	60
Cuadro 9. Concentración de triglicéridos y colesterol a los 35 y 49 días de edad en suero de pollos alimentados con diferente niveles de toyocerina (Exp. 3)	61

Figura 1. Resultados en 49 días de edad en pollos alimentados con toyocerina (Exp. 2)	62
Figura 2 y 3. Concentración de colesterol en suero con diferentes niveles de toyocerina a las 5 y 7 semanas de edad (Exp. 3).	63
Figura 4 y 5. Concentración de triglicéridos en suero con diferentes niveles de toyocerina a las 5 y 7 semanas de edad (Exp. 3).	64
Anexo 1. Lesiones en intestino delgado y tonsilas cecales en pollos de 49 días de edad alimentados con diferentes niveles de toyocerina (Exp. 2).	65

RESUMEN

CORTES CUEVAS ARTURO: El efecto del *Bacillus toyoi* sobre el comportamiento productivo en pollos de engorda y composición de la canal. (Bajo la dirección de: M.Sc. Ernesto Avila González, MC Ma. Teresa Casaubon Huguenin y MP Silvia Carrillo Domínguez).

Con la finalidad de evaluar en pollos el efecto del probiótico (Toyocerina *Bacillus toyoi* 10^{10} esporas/g), sobre el comportamiento productivo, el contenido sérico de colesterol y triglicéridos y la composición de la canal se realizaron 3 experimentos. En el Experimento 1, se utilizaron 640 pollos mixtos Arbor Acres de un día de edad. Se empleó un diseño completamente al azar con arreglo factorial 2×2 , un factor fueron los niveles de toyocerina (0 y 50 ppm) y el otro factor fueron dos sistemas de alimentación con y sin restricción en el tiempo de acceso al alimento de los 8 a los 42 días de edad. Los resultados en 49 días para ganancia de peso fueron diferentes ($P < 0.05$), encontrándose efecto a la adición de toyocerina (2409 vs 2344g). Para los sistemas de alimentación fueron diferentes los aumentos de peso ($P < 0.05$), siendo mayores *ad libitum* que restringidos (2418 vs 2336 g). En consumo solo existió diferencia ($P < 0.05$) en cuanto al sistema de alimentación, con mayor consumo en los pollos alimentados *ad libitum* (4974 vs 4733 g). En conversión alimenticia no existió diferencia ($P > 0.05$) entre los sistemas de alimentación (2.08 *ad libitum* y 2.06 restringido), ni para la adición de toyocerina (2.06, 2.06). La mortalidad general y por síndrome ascítico (SA) fue mayor ($P > 0.05$) en los animales que comieron *ad libitum* en comparación a los que tuvieron restricción alimenticia (9.55 y 2.45 %) y (4.52 y 1.45) respectivamente. Con y sin la adición del probiótico no existió diferencia ($P > 0.05$) entre los tratamientos (4.80 y 7.15 %) en la mortalidad general. Hubo efecto ($P < 0.05$) a la adición de toyocerina en SA (0.90 vs 5.07 %) con menor mortalidad. Para el Experimento 2, se emplearon 360 pollos machos Arbor Acres de un día de edad en cuatro tratamientos con tres repeticiones de 30 pollos cada uno. Se utilizó un diseño al azar con diferentes niveles del probiótico (0, 50, 100 y 150 ppm). Los resultados en

49 días para ganancia de peso mostraron un efecto lineal ($P < 0.05$) a la adición del probiótico (2258, 2321, 2376 y 2433 g). Para consumo (4648, 4802, 4782 y 4843 g), conversión (2.06, 2.07, 2.01 y 1.99), mortalidad general (10.4, 7.5, 9.6 y 5.4 %) y mortalidad por SA (6.43, 3.20, 6.43 y 3.20 %), no existió diferencia entre los tratamientos ($P > 0.05$). Los estudios de histopatología de intestino delgado y tonsilas cecales no mostraron lesiones atribuidas a la adición de toyocerina. En el Experimento 3, se emplearon 450 pollos mixtos arbor Acres de un día de edad, en un diseño completamente al azar, de tres tratamientos con niveles crecientes del probiótico (0, 75, y 150 ppm) cada uno con cinco repeticiones de 30 pollos mixtos. Los resultados obtenidos en 49 días para ganancia de peso (2475, 2494 y 2536 g), consumo (5234, 5245 y 5274 g), conversión (2.11, 2.10 y 2.08), mortalidad general (8.98, 5.12 y 10.27 %), mortalidad por SA (5.12, 1.28 y 3.20 %) y amarillamiento en la piel (34.9, 37.6 y 37.5) fueron similares entre tratamientos ($P > 0.05$). El rendimiento de la canal (56.6, 56.9 y 57.2 %) y de pechuga (27.0, 27.3, y 27.1 %) fue similar entre los tratamientos con toyocerina ($P > 0.05$). Los resultados a las 5 semanas para triglicéridos (148, 132 y 122 mg/dl) y colesterol (172, 164 y 150 mg/dl) fueron diferentes ($P < 0.01$) mostrando efecto a la adición de toyocerina y diferencia entre sexos, (triglicéridos 147 y 122 mg/dl) y (colesterol 162 y 156 mg/dl) con valores mayores en las hembras respecto a los machos ($P < 0.01$). Los resultados en 49 días para triglicéridos en suero (123, 117 y 103 mg/dl) y colesterol (159, 153 y 134 mg/dl) disminuyeron ($P < 0.05$) con la toyocerina y hubo diferencia en cuanto al sexo (triglicéridos 133 vs 95 mg/dl) y (colesterol 153 vs 144 mg/dl) con valores mayores para las hembras respecto a los machos ($P < 0.01$). Los resultados de este trabajo mostraron tendencia de un efecto promotor del crecimiento, menor mortalidad por SA, reducción de triglicéridos y colesterol en suero de pollos alimentados con el probiótico toyocerina, lo que requiere una mayor investigación.

PALABRAS CLAVE: Pollo de engorda, Probiótico, Colesterol, Triglicéridos, Toyocerina

SUMMARY

With the goal of evaluating the probiotic effects (Toyocerin® *Bacillus toyoi* 10^{10} spores/ g) on performance and carcass composition of chickens were carried out three experiments. In the first experiment, one old day 640 Arbor Acres broiler chicks unsexed were used. A random factorial design 2 x 2 was employed, the first factor was the level of toyocerin (0 and 50 ppm) and the second factor was the feeding system, with and without restriction in time to access to feed from 8 to 42 days of age. The data obtained at 49 days for weight gain were different ($P < 0.05$), there was an effect due to addition of toyocerin (2409 vs 2344g). For feeding systems there were differences in weight gain ($P < 0.05$), chicks with the *ad libitum* feeding system getting more weight gain than the restricted feeding system (2418 vs 2336 g). There was a difference in consumption ($P < 0.05$) only for the feeding systems, with more consumption in the chicks fed *ad libitum* (4974 vs 4733 g), in feed conversion were not found differences ($P > 0.05$) for the feeding systems (2.08 *ad libitum* and 2.06 restricted) neither toyocerin addition (2.06, 2.06). The total mortality and ascites syndrome mortality (AS) was higher ($P < 0.05$) in the birds that had *ad libitum* feeding system than those that had the feeding system restriction (9.55 2.45%) and (4.52 1.45) respectively. In treatments with and without probiotic addition did not show a difference ($P > 0.05$) (4.80 vs 7.15%) in total mortality. There was an effect ($P < 0.05$) to toyocerin addition in AS (0.90 vs 5.07%) with less mortality. For the second experiment one old day 360 Arbor Acres broilers male were employed in four treatments with three repetitions of 30 chickens each. A random design was utilized with several levels of probiotic (0, 50, 100 and 150 ppm). The outputs for weight gain at 49 days showed a linear effect ($P < 0.05$) to the probiotic addition (2258, 2321, 2376 2433 g). For consumption (4648, 4802, 4782 4843 g), feed conversion (2.06, 2.07, 2.01 1.99), total mortality (10.4, 7.5, 9.6 5.4%) and AS mortality (6.43, 3.20, 6.43 3.20%), there were no statistical differences among treatments ($P > 0.05$). The gut and cecal tonsil histopathology did not show lesions

attributed to the toyocerin addition. In the third experiment one old day 450 Arbor Acres unsexed chicks were employed in a random design of three treatments with increasing levels of the probiotic (0, 75, and 150 ppm) with five repetitions of 30 chick each one. At 49 days the data obtained for weight gain (2475, 2494 and 2536 g), feed consumption (5234, 5245 and 5274 g), feed conversion (2.11, 2.10 and 2.08), total mortality (8.98, 5.12 and 10.27%) AS mortality(5.12, 1.28 and 3.20%), and skin pigmentation (34.9, 37.6 and 37.5) were similar among treatments ($P > 0.05$). The carcass yield (56.6, 56.9 and 57.2 %) and breast (27.0, 27.3 and 27.1 %) was similar among toyocerin treatments ($P > 0.05$). The outputs at 5 weeks for triglycerides(148, 132 and 123 mg/dl) and cholesterol (172, 164 and 150 mg/dl) were different ($P < 0.01$) showed effect to the toyocerin addition and differences in sexes (triglycerides 147 and 122 mg/dl) and (cholesterol 162 and 156 mg/dl) with greater values of females with regard to males ($P < 0.01$). At 49 days the triglycerides outputs in serum (123, 117 and 103 mg/dl) and cholesterol (159, 153 and 134 mg/dl) with the toyocerin decrease ($P < 0.05$) and there was difference concerning to sex (triglycerides 133 vs 95 mg/dl) and (cholesterol 153 vs 144 mg/dl) with greater values of females with regard to males ($P < 0.01$). The results of this study showed a tendency to growth promoter effect, less AS mortality, decrease in serum level of triglycerides and cholesterol in chicks fed the probiotic toyocerin, that should be reinvestigated.

KEY WORDS: Broiler, Probiotic, Cholesterol, Triglycerides, Toyocerin.

INTRODUCCIÓN

El empleo de antibióticos como promotores del crecimiento en dietas para aves, es una práctica común desde hace muchos años. Los antibióticos representan un grupo de compuestos producidos biológicamente por hongos, los cuales poseen propiedades bactericidas y bacteriostáticas. La adición de antibióticos al alimento de los pollos, a niveles de aproximadamente 5 a 10 gramos por tonelada de alimento, mejora el crecimiento, aun cuando se agregen a dietas que contienen todos los nutrimentos conocidos (1).

La alimentación con bajos niveles de antibióticos repercute mejorando la funcionalidad del tracto intestinal, lo que resulta en un mayor crecimiento de los pollos de engorda y una mejora en la conversión alimenticia (2). Los antibióticos más utilizados fueron penicilinas, tetraciclinas, o combinaciones de éstas. Más recientemente se han venido utilizando bacitracina zinc, avoparcina, virginiamicina y flavomicina entre otros (3). En términos generales el porcentaje medio de incremento en la ganancia de peso durante 8 semanas de edad en pollos de engorda es de 4%, y en la eficiencia alimenticia es de 2.4%(1).

Los antibióticos sin embargo, pueden alterar la flora intestinal y debilitar la protección contra patógenos. Se pueden inhibir las defensas naturales contra patógenos tales como *E.coli*, *Salmonella spp* y bacterias del género *Clostridium spp* (2). El efecto de los antibióticos sobre la flora intestinal depende del nivel utilizado en la dieta, a mayor nivel de promotor de crecimiento mayor es la alteración en la flora intestinal. Algunos antimicrobianos como las sulfas y fluoroquinolonas, normalmente tienen un mínimo efecto sobre las bacterias anaerobias. Aquellos antimicrobianos que son menos efectivos contra bacterias anaerobias tienen también un mínimo efecto sobre la microflora intestinal(2,3, 4).

A nivel mundial desde hace algunos años se ha estado reduciendo el uso de antibióticos en la alimentación animal, debido al incremento en la resistencia bacteriana a los antibióticos y a su efecto residual en los productos de origen animal que pueden ser perjudiciales al humano. En las últimas dos décadas, los probióticos han sido investigados como alternativa para sustituir a los antibióticos en la alimentación animal (5,6,7,8).

En la actualidad gracias a la biotecnología, se han obtenido mejores probióticos para ser utilizados en el alimento para promover el crecimiento en los animales. La utilización de probióticos se ha incrementado en la última década, gracias a las normas de sanidad animal en Europa y América del Norte (1,6).

El establecimiento de una microflora en el tubo intestinal es inevitable y dependerá de los microorganismos presentes en el medio ambiente. El uso indiscriminado de antibióticos en la alimentación de las aves ha desequilibrado la simbiosis entre la microflora y el ave, ocasionando la aparición de resistencia de algunas cepas de *E. coli* (24,7).

Originalmente la palabra probiótico significa "para la vida" en contraste de lo que significa antibiótico "contra la vida". El término probiótico fue descrito primeramente por Parker(9), quien define como probiótico aquellos microorganismos y sustancias que contribuyen al balance de la microflora intestinal.

Posteriormente Fox (10), lo describe como cualquier microorganismo vivo o muerto o sus productos de fermentación que son administrados en el alimento de los animales (9). Fuller (11), define a los probióticos como microorganismos vivos suplementados en el alimento, con efectos benéficos hacia el huésped animal, siendo esta definición la más aceptada hasta el momento (11).

Los probióticos son uno o mezclas de microorganismos vivos, que cuando son adicionados en el alimento para los animales producen efectos benéficos en el huésped, mejorando las propiedades de la microflora nativa (12).

Los probióticos pueden ser clasificados en dos tipos: a) microorganismos viables, tales como las especies de *Lactobacillus spp*, *Bacillus spp*, algunos *streptococos* y levaduras y b) productos de la fermentación microbiana (12,13).

Los probióticos son efectivos cuando son viables y estables por períodos largos de almacenamiento y cuando son capaces de sobrevivir a nivel intestinal para lograr un efecto benéfico en el animal (14). Como promotores de crecimiento, se deben de utilizar a dosis de 10^6 a 10^7 UFC/gramo en el alimento durante toda la crianza en el pollo de engorda (15).

Uno de los criterios que se ha sugerido tomar en cuenta para algunas cepas de probióticos, es la viabilidad, la cual es monitoreada contando el número de microorganismos 15 días después de haber sido suplementados en el alimento (13,16).

Existen más de 65 especies de bacterias, usadas en mezclas o por sí solas en experimentos que se han realizado para el control de *Salmonella spp* en aves (7,17,18,19).

Se sabe que los probióticos que tienen menos de 1000 microorganismos por gramo de alimento, disminuyen su efectividad inexorablemente con el tiempo. Este decremento depende de la especie de bacteria, su forma y vehículo utilizado. Aquellas bacterias que presentan esporas tiene mayor estabilidad y resistencia que los géneros de *Enterococos spp*, *Streptococcus faecal* y aún más que las especies de *Pedicoccus spp* y *Leconostoc spp*. Después se encuentran las especies de *Lactobacillus spp* cuya respuesta es variable dependiendo de la especie que se trate, por ejemplo el *L. plantarum* es más estable que el *L.*

acidophilus. En el nivel más bajo de resistencia se encuentran especies de *Bifidobacterias* comunmente llamadas "*Bifidus*"; bacterias débiles por lo cual no son utilizadas como probióticos en los alimentos (20,21).

Existen preparaciones comerciales que contienen bacterias de los géneros *Bifidobacterium spp*, *Lactobacillus spp*, *Streptococcus spp*, *Bacillus spp*, *Bacteroides spp*, *Pediococcus spp*, *Leuconostoc spp* y *Propionibacterium spp*, que son utilizadas en alimentos para mamíferos y aves (22). Una cepa de *Clostridium spp* es utilizada en Japón y en algunas ciudades de la comunidad Europea, no así en México. También son utilizadas bacterias intestinales a nivel comercial llamadas Broilact® y Aviguard® exclusivas para la prevención de *Salmonella spp* en las aves(22).

En los Estados Unidos de Norteamérica la FDA (Administración de Drogas y Alimentos) y la Asociación Americana Oficial para el Control de Alimentos (AAFCO) aceptan como probióticos, a aquellos que cumplan la característica de ser ingredientes sanos o seguros (GRAS) por sus siglas en inglés (As Generally Recognized as Safe Ingredients), por ejemplo al género *Lactobacillus spp*, *L bulgaris*, *L. acidophilus*, *L. casei*, *L. helveticus*, *L. lactis*, *L. salivarius*, *L. plantarum* y también se incluyen los géneros *Streptococcus spp*, *Thermophilus spp* *Bifidobacterium spp*, *Bacillus spp* y las especies de *Enterococcus faecium*, *Enterococcus faecallis*, *E. coli* y *Bacillus subtilis* (14).

Los probióticos más utilizados son aquellos que contienen bacterias productoras de ácido láctico, tal es el caso de la toyocerina, la cual contiene esporas del *Bacillus toyoi* que resisten la acidéz por su paso en el proventrículo y molleja, al llegar al intestino delgado, revierten hacia su fase vegetativa donde ejercen su acción (23).

Algunas infecciones bacterianas encontradas en las aves como salmonelosis y campilobacteriosis, se consideran de importancia en salud pública (7,8,17,18,19). Esto ha llevado a los investigadores a buscar alternativas para modular la flora intestinal, mediante el uso de probióticos para así mantener una flora biológicamente estable (24,25,26).

La carne de pollo contaminada por *Salmonella spp*, es una de las fuentes más comunes que ocasionan salmonelosis humana cuando se consume este tipo de carne (7,8,17,18). Este problema puede controlarse adicionando probióticos para evitar la infección por *Salmonella spp* en los pollos. Los cultivos liofilizados a partir de ciegos de un ave adulta, administrados en pollos de un día de edad, tienen la finalidad de proteger y evitar el crecimiento de bacterias patógenas (27).

Las bacterias patógenas que destruyen las microvellosidades de las células del intestino y otras estructuras, obstruyen la absorción de los nutrimentos, dentro de estas bacterias se encuentra la *Salmonella gallinarum*, *Campylobacter jejuni* y cepas de *E. coli* (18,27,28). De aquí la importancia de adicionar probióticos en la dieta para aves como una alternativa para la estabilización proporcional de la flora intestinal y mucosa del intestino, para prevenir la colonización de microorganismos patógenos, aparte de tener el efecto de promoción del crecimiento (27).

Microflora intestinal

En las aves comerciales, el desarrollo del ecosistema en el tracto digestivo empieza en las primeras 48 horas de vida; sin embargo se requieren tres semanas para tenerlo bien establecido y lograr la madurez de la flora intestinal (11). La microflora varía con la edad del ave, el tracto gastrointestinal (TGI) en un pollo de un día de edad generalmente contiene pocas bacterias y se empieza a colonizar al estar en contacto con bacterias presentes en el agua, alimento, heces, medio ambiente de la incubadora y la nacedora o durante el transporte. La microflora es

funcionalmente similar a la de un ave adulta, algunas semanas después, la flora es más amplia en cuanto a cepas y especies de bacterias se refiere (6,24,27).

La carencia de microflora en un ave de 0 a 21 días de edad permite que tenga un mecanismo débil de exclusión bacteriana y esto la predispone a la colonización por patógenos. La flora intestinal cumple varias funciones fisiológicas que contribuyen al estado de salud del ave, un disturbio en la proporción de la flora intestinal conlleva a presentar daños intestinales, donde normalmente las bacterias realizan funciones, como la degradación de carbohidratos y proteínas que son absorbidas por el ave, producción de ciertas vitaminas del complejo B, la estimulación del sistema inmune, la producción de ciertas enzimas y la degradación de toxinas presentes en el alimento; sin embargo, la microflora puede ser alterada por antibióticos y el estrés (13,29).

Una flora inmadura hace susceptible al TGI a enfermedades como la salmonelosis; este efecto ha sido controlado con la inclusión en la dieta de antibióticos promotores del crecimiento, como la penicilina, bacitracina, virginiamicina y lincomicina (4,5). Algunos de estos antibióticos han sido utilizados desde hace cerca de 50 años, sin embargo su eficiencia ha disminuido por la continua exposición con las bacterias y por ende a una resistencia hacia los antibióticos usados como promotores del crecimiento. Cabe señalar que los antibióticos empleados en el alimento, destruyen a las bacterias benéficas productoras del ácido láctico (5).

El epitelio intestinal con una flora óptima, representa una barrera para el paso de microorganismos patógenos, antígenos y compuestos extraños hacia el lumen intestinal. En adición a esto, la mucosa es eficiente transportando antígenos hacia los nódulos linfoides (30).

Las investigaciones han mostrado que el *Lactobacillus* es la bacteria predominante en buche, molleja, proventrículo e intestino delgado. También son de significancia en esos órganos los estreptococos y bacterias coliformes (12).

Las bacterias benéficas que conforman la flora gastrointestinal incluyen bacterias aeróbicas estrictas, como los géneros *Enterococcus spp*, *Lactococcus spp*, *Lactobacillus spp*, *Citrobacter spp*, y bacterias oportunistas como *E. coli*. Algunas bacterias son anaeróbicas facultativas y también forman parte de la flora normal, dentro de estas se encuentran los géneros *Clostridium spp*, *Peptococcus spp*, *Streptococcus spp*, *Veillonella spp*, *Bifidobacterium spp*, *Eubacterium spp*, *Propionibacterium spp*, *Bacteriodes spp* y *Fusobacterium spp* (31).

La microflora en el ciego es muy diferente, aquí es más bajo el suministro de fluidos y se presentan las condiciones ideales para la reproducción y crecimiento de bacterias anaeróbicas. Las poblaciones bacterianas que más se encuentran en los ciegos y colon son los géneros *Bacteriodes spp*, *Bifidobacterium spp*, *Clostridium spp*, *Peptostreptococcus spp*, *Propionibacterium spp*, y *Eubacterium spp*. La microflora encontrada en el colon y cloaca puede variar considerablemente (32).

Algunas investigaciones indican que en el TGI hay más de 50 tipos de bacterias, su presencia y densidad de población pueden ser modificadas por el tipo de bacterias y cambios en el ambiente. La composición de las poblaciones bacterianas presentes varía con el pH, nivel de oxígeno (O₂), y la proporción de líquidos en la ingesta en el buche, proventrículo, molleja, intestino delgado, ciegos y colon. La *E. coli* forma parte de la microflora normal en las aves y mamíferos; sin embargo, bajo ciertas circunstancias puede ser patógena para el pollo de engorda (33).

Los resultados han sido favorables al evaluar la eficacia de un producto comercial (Briolac®) para el control del crecimiento de bacterias patógenas en los ciegos de los pollos (34). Algunas investigaciones señalan el efecto protector de la microflora nativa contra la *Salmonella spp*, *E. Coli*, *Campilobacter spp* y *S. thifhimurium* (35,36,37).

En estudios realizados con *B. subtilis* C-3102 se inhibió el desarrollo de bacterias patógenas como *Campylobacter spp*, *Salmonella spp*, *Enterobacteriaceae spp* y *Cl. perfringens* en el tracto digestivo al propiciar la proliferación de lactobacilos, quienes actúan por exclusión competitiva ante bacterias patógenas; es decir un efecto de simbiosis entre el *B.substilis* y los lactobacilos. Sin embargo; en estos estudios no se cuantificaron los parámetros productivos para evaluar la presencia de esporas del bacilo en la dieta (38).

Mecanismo de acción

El control de las bacterias patógenas como *Salmonella spp* se hace mediante la exclusión competitiva. Se ha propuesto por algunos investigadores que los pollos recién nacidos, con una flora nativa a temprana edad crean un ecosistema hostil para dicha bacteria compitiendo por sitios de adhesión, produciendo sustancias antibióticas, competencia por nutrientes y la creación de un ambiente anaerobio (35,36,37).

Los probióticos ejercen su efecto benéfico por exclusión competitiva; es decir la competencia por los sitios de adhesión en la superficie intestinal, por inmunoestimulación (incrementando los linfocitos T y B), por una mayor producción de ácido láctico, disminución en la producción de aminas tóxicas y el aumento de aminoácidos disponibles para su absorción, además aumentan la disponibilidad de vitaminas y enzimas (14,20,39,40,41).

En general, los probióticos ejercen su acción produciendo cambios benéficos en la flora intestinal, reduciendo la población de *E. coli*, aumentando la producción de ácido láctico. El ácido láctico es importante porque reduce el pH en el lumen intestinal, con este efecto se disminuye la capacidad de óxido-reducción de las bacterias patógenas, como *C. perfringes*, *E. coli*, *Salmonella spp*, y *Campylobacter spp* e impiden su crecimiento puesto que se desarrollan en un pH entre 6-7 (28,32,42).

En la actualidad aun no existen evidencias científicas que comprueben el modo de acción de los probióticos; sin embargo, se han realizado investigaciones que permiten proponer mecanismos de acción, entre ellos se mencionan:

Competencia por unirse a receptores

Existen evidencias de que la microflora nativa del TGI, evita la colonización de patógenos en pollos jóvenes libres de patógenos o libres de un tratamiento con antibiótico (43). Este efecto se le ha denominado "efecto Nurmi" o bien conocido como exclusión competitiva. Dicho efecto ha sido comprobado en muchos estudios, en donde se ha inoculado a pollos de un día de edad con cultivos de bacterias provenientes del ciego de aves adultas, con la finalidad de inhibir el alojamiento de bacterias patógenas como *Salmonella spp*, *E. coli*, *Clostridium spp* y *Campylobacter spp* (35,36,37).

La competencia que existe entre la microflora y bacterias patógenas para adherirse a la mucosa intestinal, se da por la producción de ácidos grasos volátiles por parte de las bacterias nativas. Por exclusión competitiva los probióticos que contienen *L. acidophilus* y *Streptococcus faecium* inhiben la colonización de *Campylobacter jejuni* en el tracto intestinal de pollos y *S. typhimurium* en colon y

ciegos de pollos, bacterias que causan gastroenteritis en humanos cuando se consume carne contaminada por dichas bacterias (18,19).

Competencia por nutrimentos.

Respecto a este modo de acción solo se hipotetiza, que los probióticos compiten con las bacterias patógenas que llegan a invadir el lumen por nutrimento. Sin embargo, hasta el momento no existen investigaciones que comprueben este modo de acción (44).

Producción de compuestos antibacterianos.

Para la explicación de este mecanismo de acción nos referimos a algunos géneros y especies de bacterias que producen bacteriocinas: subtilin producido por bacterias del género *Bacillus spp*, nisina y lactocin producidos por *L. lactis*, reuterina producido por *L. reuteri*, acidolin, lactocidin, acidofilin, peróxido de hidrógeno y algunos ácidos orgánicos (láctico, acético, butírico y propiónico) son producidos por *L. acidophilus*, el bulgaricin es producido por *L. bulgaricus* (19,21).

Las bacteriocinas varían en su espectro de inhibición, por ejemplo; el acidolín inhibe algunas especies gram positivas y gram negativas. El reuterín inhibe toda bacteria, levadura y hongos, el subtilin actúa contra bacterias gram positivas, nisina y lactocin inhiben bacterias gram positivas y bacterias del género *Clostridium* (13,45).

La inhibición de bacterias patógenas por medio de bacteriocinas, ha sido comprobado en pruebas de laboratorio mediante cultivos en agar específico al que se adicionaron bacteriocinas. Sin embargo, no se ha demostrado científicamente el mecanismo biológico por medio del cual las bacteriocinas inhiben el crecimiento

bacteriano. Solo existen modelos que sugieren su mecanismo e indican que existe una alteración en la permeabilidad de la pared celular, impidiendo la salida del potasio, así como la producción y transporte de ATP (19).

Los ácidos orgánicos producidos por anaerobios obligados y facultativos, se sabe que disminuyen el pH intestinal. Las cepas de *Lactobacillus spp*, *Streptococcus spp* y *Bifidobacterium spp* que producen ácido acético y láctico, han sido las más utilizadas como probióticos. Recientemente se ha demostrado que *Veillonella* produce ácido acético y propiónico (46)

A partir de la segunda semana de edad en los ciegos de las aves, se producen ácidos grasos volátiles. Este efecto ayuda al ave, debido a que disminuyen el pH los ácidos grasos volátiles presentes en el medio ambiente de los ciegos (14,47,48).

Respuesta inmune intestinal

La protección inmunológica inicial en las aves, está concentrada en la yema. En los primeros 4 días de vida, se vierten los anticuerpos IgG contenidos en el saco vitelino hacia el lumen intestinal. Se han identificado IgA e IgM en secreciones intestinales y sales biliares de pollos (49,50).

El sistema inmune de la mucosa intestinal, es constantemente expuesto a varios antígenos (bacterias procedentes del alimento, bacterias propias de la microflora nativa y bacterias patógenas). La respuesta inmune contra antígenos propios del alimento y flora intestinal no es constante. Por lo contrario los patógenos necesitan adherirse a las microvellosidades para causar una respuesta inmune. Para esta función, la mucosa intestinal consiste de dos distintas poblaciones de linfocitos ampliamente distribuidos (linfocitos T y B) (49).

Los linfocitos intraepiteliales que se encuentran cerca de la lámina basal y que son en su mayoría linfocitos T, juegan un papel importante manteniendo el balance entre la respuesta inmune y la tolerancia a antígenos de la flora intestinal. Los linfocitos T reaccionan con actividad citotóxica y citolítica contra células infectadas por bacterias. Se menciona que los linfocitos que se encuentran en la lámina propia, situados por debajo de la lámina basal; son los linfocitos B, los que producen inmunoglobulinas (IgA) que son transportadas hacia el lumen intestinal. Al teñir cortes histológicos de duodeno, ileon y yeyuno con fluoresceína ha sido observado que en la lámina propia, las células producen mayor cantidad de IgA que de IgM y en menor proporción, IgG. Esto sugiere, que al nivel del lumen intestinal se liberan constantemente dichos anticuerpos ante la presencia del probiótico o por la propia microflora presente en el intestino. Sin embargo, este sistema de defensa inmunológico que inducen los probióticos y la microflora del TGI no está claramente definido (49,50,51).

En cuanto a sus mecanismos de acción de los probióticos se ha avanzado sin embargo, falta mucho por investigar para concretar científicamente cuáles son los mecanismos de acción.

Con base en todo lo anterior se considera el probiótico ideal, a aquel que reúna las siguientes características: no ser patógeno para el humano y animales, tener tolerancia a ácidos biliares y pH ácido, ser productor de ácido láctico, proliferar in vitro e in vivo y tener una alta tasa de sobrevivencia después de su procesamiento (20).

Factores que afectan la microflora intestinal

La fisiología intestinal y los mecanismos de defensa del huésped juegan un papel importante en el crecimiento de la microflora normal y a su vez determinan la composición y distribución de la flora intestinal. Cuando existen cambios en la

microflora del TGI puede resultar favorable o contraproducente, dependiendo de la causa o el tipo de bacterias que están involucradas en dicho cambio (31).

Existen factores que pueden afectar la microflora del TGI tales como: 1) los propios del hospedero como son: pH, secreción de inmunoglobulinas, sales biliares, enzimas, la propia peristalsis, mucinas y células de descamación; 2) los factores microbianos: adhesión, motilidad, esporas, cápsulas, y componentes antimicrobianos, 3) los de la interacción microbiana: cooperación metabólica, factores de crecimiento, excreción de vitaminas, alteración de pH, O₂, producción de aminos, ácidos grasos y requerimientos nutricionales; 4) los del estrés fisiológico; las estirpes actuales por su rápido crecimiento son sometidas a un trabajo metabólico extenuante y por último; 5) los factores de la dieta, cuando esta contiene compuestos no digeribles (52).

Los cambios físicos en las heces, como la diarrea indican comúnmente un cambio en la flora normal o en algunos casos, la invasión de agentes patógenos. Por lo tanto, cuando se implanta un programa de promotores de crecimiento con probióticos en las dietas, aunado con buenas prácticas de manejo, se reduce en las aves el estrés y adquieren una microflora deseable. Las bacterias de la flora normal no alteran la absorción de nutrientes. Algunos de sus productos metabólicos, como son: antibióticos, ácido láctico, y peróxido de hidrógeno entre otros, producen un medio desfavorable para bacterias patógenas que causan diarrea (53).

Otros factores que afectan la estabilidad de los probióticos es el exceso de humedad en el alimento (> 14%), pH ácido (< 4), ya que estos prefieren un pH alrededor de 6-7. Por otra parte la exposición al oxígeno puede destruir algunas bacterias, especialmente las anaerobias no esporuladas como las bifidobacterias y algunas especies de lactobacilos. La temperatura es otro factor que afecta la viabilidad de los probióticos. Se han observado efectos negativos cuando el

alimento es almacenado con temperaturas superiores a los 25° C. Entre otros factores se encuentran los ingredientes de la dieta por ejemplo; los ácidos grasos insaturados poseen propiedades antibióticas (9,54).

Algunos microorganismos no deben ser incluidos en la dieta junto con premezclas de vitaminas o minerales. La compatibilidad deberá ser establecida con los aditivos usados en el alimento, porque varios de ellos no se conoce si tienen actividad antibiótica o antifungal. Los procesos de extrusión y peletización destruyen bacterias e inclusive esporas (10-30%), al someter al alimento a temperaturas superiores a los 80° C son destruidos los probióticos. En el caso de *Enterococcus* pueden destruirse el 90 % con dichos procesos y los *Lactobacillus* aún más del 90 %; por estas razones se recomienda contabilizar el número de bacterias u esporas por gramo de alimento al término de dichos procesos (9,15,54).

Parametros productivos y rendimiento de la canal.

La mayoría de los estudios realizados en aves para evaluar la eficacia de los probióticos sobre parámetros productivos se han hecho adicionando *L. acidophilus* a una concentración de 0.02 a 2% en la dieta y en el agua de bebida a razón de 10^7 a 10^9 UFC (unidades formadoras de colonia) por pollo; sin embargo, esto no ha sido reglamentado (54,55).

Existen estudios donde han encontrado que la adición de *Lactobacillus spp* en la ración, mejora la ganancia de peso y la conversión alimenticia. Sin embargo otros autores, no han encontrado efecto a la adición de probióticos en ganancia de peso y conversión alimenticia (56,57,58). Bajo condiciones comerciales, los pollos han mostrado un mejoramiento en la ganancia de peso y eficiencia alimenticia, y en algunas ocasiones no se ha encontrado efecto alguno (59,60).

En pavos han sido probados productos comerciales con *Lactobacillus reuteri*, con lo cual se ha mejorado la ganancia de peso y eficiencia alimenticia (61). El mejoramiento de los parámetros anteriormente mencionados en pollos de engorda con la inclusión en la dieta con diferentes probióticos (*B. bifidum*, *L. acidophilus*, *Pedococcus acidilactic* y *Ent. faecium*), ha sido estadísticamente significativo ($P < 0.05$) (62). En el caso de esporas de *Bacillus spp* expendidos comercialmente (Paciflor® y Toyocerina® y esporas de *Cl. butyricum*), han mejorado la ganancia de peso, pero no la eficiencia alimenticia (63,64).

Los probióticos antes mencionados han sido administrados desde el primer día de edad. Otros probióticos, como *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Sacharomyces* y *Bacillus spp*, han sido administrados en el alimento y agua de bebida en la cuarta semana de edad sin demostrar efectos significativos en la ganancia de peso (59). Este mismo efecto ha sucedido en gallinas de postura, sobre la producción de huevo al incluir en el alimento *L. acidophilus*, *Sacharomyces cerevisae*, *Enterococcus. faecium* y *Kluveromyces fragilis* (65).

Los probióticos que actúan por exclusión competitiva para *salmonella*, no tienen efecto alguno sobre la conversión alimenticia y ganancia de peso en pollos de engorda al ser administrados en el agua de bebida (66,67).

Kozasa 1986 sugiere que la Toyocerina fue más efectiva como aditivo antibacteriano, que como promotor del crecimiento, al ser incluido en la dieta para gallinas y pollos de engorda (23).

Por otro lado, se ha buscado un posible efecto ahorrador en los niveles de aminoácidos y proteína en la ración, disminuyendo la metionina+cistina y lisina respecto al contenido en la dieta testigo, los resultados indicaron que con y sin la adición del probiótico no incrementó la ganancia de peso en las aves en experimentación, pero si se obtuvo un ahorro de aminoácidos (68).

La combinación de probiótico (*Bacillus toyoi* 100 ppm) y antibiótico (nitrovin 12ppm) en dietas para pollos de engorda mejoraron significativamente ($P < 0.05$) la ganancia de peso (1923g versus testigo 1827g) y la conversión alimenticia (2.08 vs 2.19) respectivamente (69). Sin embargo, este efecto no fue mostrado cuando se combinaron (*L.sporogenes* 50 ppm) y (aureomicina 50 ppm) al no encontrar diferencias estadísticas ($P > 0.05$) para ganancia de peso (1327g versus testigo 1261g) y conversión alimenticia (1.87 vs 2.03) respectivamente (70).

Triglicéridos y colesterol

Las estirpes modernas de pollos tienden a depositar grasa corporal en exceso. La mejora genética en la ganancia de peso y el mayor crecimiento, ha conducido a tener canales más grasosas y con un mayor contenido de triglicéridos y colesterol, situación que puede ocasionar problemas cardiovasculares al humano cuando consume este tipo de carne (71).

Varias investigaciones han sido dirigidas a estudiar la manera de disminuir nutricionalmente, la grasa y por ende el colesterol y triglicéridos en las canales de pollos. Algunos investigadores han encontrado que la inclusión de probióticos en dietas para pollos de engorda, reduce significativamente el colesterol y triglicéridos en suero (72,73,74).

Algunos otros estudios han mostrado que la inclusión de microorganismos en dietas para aves previenen la diarrea, reducen el colesterol en suero, la cantidad de grasa corporal y mejoran el crecimiento y la conversión alimenticia(53,75,76,77). La razón por la cual se disminuyó la grasa corporal y abdominal, fue debido a una menor actividad de la enzima acetil CoA carboxilasa, encargada de sintetizar ácidos grasos y esta a su vez disminuyó la concentración de triglicéridos a nivel hepático (78,79).

Varios estudios revelan que con 100 ppm de *Lactobacillus acidophilus* se reduce el colesterol en suero (84.1 mg/dl versus 118.4 mg/dl en los testigos) (72). En otra investigación se encontró que los triglicéridos en suero disminuyen a 0.39, 0.32 y 0.29 mg/dl y de colesterol 4.62, 4.60 y 4.33 mmol/L con la adición de 0, 10 y 20 ppm de *Bacillus subtilis* (73).

Abdulrahim *et al.* (74) realizaron estudios en gallinas Lohman blancas adicionando 40 ppm con 4.0×10^6 UFC de *L. acidophilus* con resultados muy similares a los de Mohan *et al.* (72) y Santoso *et al.* (73) quienes encontraron una disminución de triglicéridos y colesterol en suero cuando la dieta contenía el probiótico. La concentración de triglicéridos en yema de huevo, no se disminuyó con la adición del probiótico, no así la concentración de colesterol que se vió reducida en la yema con la adición de *L. acidophilus* en la dieta.

Hadadadin *et al.* (80) realizaron un estudio en gallinas adicionando (0,0.67, 2 y 4 X 10^6 UFC/g de alimento, de *Lactobacillus acidophilus*. Los resultados indicaron una disminución lineal en la concentración de colesterol en plasma y yema de huevo con la adición de probiótico. Sin embargo, no se encontró este efecto al medir la concentración de triglicéridos en plasma y yema de huevo. La composición de la canal también ha sido objeto de estudio por algunos investigadores, pero no se han reportado resultados con efecto significativo a la adición de probióticos (*L. sporogenes*, *Bacillus* CIP 5832, *B. Lincheniformes* y *B. Subtilis*) sobre el rendimiento de la canal. De la misma manera no se ha demostrado el efecto sobre el rendimiento de pechuga, pierna y muslo (58,70,81).

JUSTIFICACION

Con estos antecedentes, se planteó el presente estudio en pollos de engorda, con el fin de investigar el efecto de la toyocerina como promotor del crecimiento. Es importante que estas investigaciones sean realizadas con las condiciones climáticas y de manejo que existen en nuestro país. Así mismo, se ha mencionado que el consumo de cualquier grasa animal predispone al humano a problemas cardiovasculares, debido a que estas grasas contienen un nivel considerable de colesterol. De aquí la necesidad de investigar si mediante la adición de toyocerina en dietas para pollos de engorda se reduce el contenido sérico de triglicéridos y colesterol.

Por otro lado, se sabe que las aves que consumen probióticos presentan una microflora intestinal estable, que permite una mejor absorción de nutrimentos y aditivos, como son los pigmentos utilizados para la coloración de la piel de los pollos; ya que en México es importante el color de la piel del pollo para sus consumidores.

OBJETIVOS

Objetivo general:

Evaluar el efecto del *Bacillus toyoi* sobre el comportamiento productivo y la composición de la canal.

Objetivos particulares:

Evaluar la adición de toyocerina (*Bacillus toyoi*) en dietas para pollos de engorda sobre parámetros productivos, porcentaje de mortalidad general y mortalidad por SA, así como su rendimiento de la canal y coloración de la piel.

Evaluar la inclusión de toyocerina en dietas para pollos de engorda sobre las concentraciones sanguíneas de triglicéridos y colesterol en 5 y 7 semanas de edad.

Evaluar por medio de histopatología cambios en la estructura histológica en intestino delgado y tonsilas cecales, en pollos alimentados con toyocerina.

HIPOTESIS

La adición de toyocerina en dietas para pollos de engorda, mejora el comportamiento productivo, disminuye el porcentaje de mortalidad general y por el SA; así mismo, mejora el rendimiento de la canal y la coloración de la piel.

La inclusión de toyocerina en dietas para pollos de engorda disminuye la concentración sanguínea de triglicéridos y colesterol.

El empleo de toyocerina en dietas para pollos de engorda no produce cambios en la estructura histológica de intestino delgado y tonsilas cecales.

MATERIAL Y MÉTODOS

El presente estudio se realizó en el Centro de Enseñanza, Investigación y Extensión en Producción Avícola de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México, localizado en Zapotitlán, Tláhuac, Distrito Federal, a una altitud de 2, 250 m.s.n.m, entre los paralelos 19° 17' latitud norte y los meridianos 99° 02' 30" longitud oeste, con clima templado subhúmedo, y bajo grado de humedad (C (wo)(w). Enero es el mes más frío y mayo el mes más caluroso, la temperatura media anual 16°C y la precipitación pluvial anual de 747 mm(82).

Para la realización de este trabajo se desarrollaron tres experimentos, los experimentos 1 y 2, se llevaron a cabo en los meses de diciembre-enero y el tercero en los meses de abril-mayo con una duración de 0 a 49 días. Se utilizó una caseta convencional con pisos de cemento y cortinas laterales, en donde se les proporcionó a las aves agua y alimento al libre acceso excepto en el Experimento 1, que contó además con un tratamiento que siguió un programa de restricción alimenticia. La inclusión de toyocerina se hizo en los alimentos terminados de acuerdo a lo especificado en cada experimento.

Las dietas basales empleadas en los 3 experimentos estuvieron constituidas principalmente por sorgo + soya como se muestra en el Cuadro 1; a estas dietas terminadas se les adicionaron los diferentes niveles de toyocerina de acuerdo a cada experimento como se indica posteriormente. Las fases de alimentación en cada uno de los experimentos, se llevaron a cabo como sigue (1):

- a) Iniciación :0 a 21 días con 22 % de proteína y 2950 Kcal/ Kg de E.M.
- b) Finalización: 22 a 49 días con 20 % de proteína y 3050 Kcal/ Kg de E.M.

Las aves en los tres experimentos fueron sometidas al mismo calendario de vacunación (Cuadro 2).

Se proporcionó a las aves calor con criadoras catalíticas, las primeras cuatro semanas de vida. Posteriormente, la temperatura y ventilación fueron reguladas mediante el uso de cortinas laterales.

En los 3 experimentos se llevaron registros de ganancia de peso, consumo de alimento, conversión alimenticia, porcentaje de mortalidad general, porcentaje de mortalidad por SA. Otras variables estudiadas se detallan en forma específica en los experimentos.

Experimento 1.- Se utilizaron 640 pollos mixtos de un día de edad, estirpe Arbor Acres bajo un diseño completamente aleatorizado con un arreglo factorial 2 x 2; en el cual dos factores fueron los niveles de toyocerina (0 y 50 ppm 10^{10} esporas /g) y los otros dos factores fueron dos sistemas de alimentación (*ad libitum* y restricción alimenticia). El programa de restricción en el tiempo de acceso al alimento, se llevó a cabo de la siguiente manera:

1er semana *ad libitum*

2a semana 8 hrs de acceso al alimento

3a semana 8 hrs de acceso al alimento

4a semana 9 hrs de acceso al alimento

5a semana 9 hrs de acceso al alimento

6a semana 10 hrs de acceso al alimento

7a semana *ad libitum*

El acceso al alimento se reguló subiendo y bajando comederos según el número de horas que indicó el programa de restricción alimenticia.

Cada uno de los cuatro tratamientos contó con cuatro repeticiones de 40 pollos mixtos cada una. A los 49 días de edad, fecha en que finalizó el estudio, fueron

sacrificados por dislocación cervical, 4 pollos(2 hembras y 2 machos), en cada repetición. Para medir la coloración en la piel de la pechuga con un colorímetro de reflectancia CR-300 (1).

El modelo estadístico del arreglo factorial 2X2, en un diseño completamente aleatorizado empleado para analizar las variables en estudio, fue el siguiente (83):

$$Y_{ijk} = \mu + NT_i + SA_j + (NT \times SA)_{ij} + E_{ijk}$$

Donde:

Y_{ijk} = valor de la variable de respuesta (ganancia de peso, consumo de alimento, conversión alimenticia, % de mortalidad general y por síndrome ascítico) correspondiente al i -ésimo nivel de toyocerina (NT) y al j -ésimo sistema de alimentación (SA) en la k -ésima repetición.

μ = Media general poblacional para ganancia de peso, consumo de alimento, conversión alimenticia, % de mortalidad general y % de mortalidad por síndrome ascítico.

NT_i = Efecto del i -ésimo nivel de toyocerina

SA_j = Efecto del j -ésimo sistema de alimentación

$(NT \times SA)_{ij}$ = Efecto de la interacción del i -ésimo nivel de toyocerina y del j -ésimo sistema de alimentación.

E_{ijk} = Error experimental, asociado a cada una de las observaciones.

La hipótesis nula planteada (H_0) fue: La ganancia de peso, consumo de alimento, conversión alimenticia y porcentajes de mortalidad general y por síndrome ascítico son diferentes con y sin la adición de toyocerina bajo dos sistemas de alimentación (*ad libitum* y restricción alimenticia)

$H_0: T_1 \neq T_2 \neq T_3 \neq T_4$

$H_a: T_1 = T_2 = T_3 = T_4$

Experimento 2 .- Se utilizaron 360 pollos machos Arbor Acres de un día de edad. Se empleó un diseño experimental completamente aleatorizado y constó de cuatro tratamientos (0, 50, 100 y 150 ppm de toyocerina 10^{10} esporas/g), adicionado al alimento con tres repeticiones de 30 pollos machos cada una. A los 49 días de edad, fueron sacrificadas 4 aves por tratamiento. Para histología fueron tomadas muestras de 1 cm. de largo a partir de duodeno, yeyuno e ileon y tonsilas cecales que fueron fijadas en formalina buferada al 10% durante 24 horas para su posterior procesamiento de inclusión en parafina, para la obtención de 5 micras de espesor realizados con el microtomo, y tinción con hematoxilina-eosina en los tejidos (84). En este experimento se empleó el siguiente modelo estadístico(82):

$$Y_{ij} = \mu + NT_i + E_{ij}$$

Donde:

Y_{ij} = Valor de la variable de respuesta (ganancia de peso, consumo de alimento, conversión alimenticia y porcentajes de mortalidad general y por síndrome ascítico) correspondiente al i-ésimo nivel de toyocerina (NT) en la j-ésima repetición.

μ = Media general poblacional para ganancia de peso, consumo de alimento, conversión alimenticia y porcentajes de mortalidad general y por síndrome ascítico

NT_i = Efecto del i-ésimo nivel de toyocerina

E_{ij} = Error experimental asociado a cada una de las observaciones.

La hipótesis nula planteada (H_0) fue: La ganancia de peso, consumo de alimento, conversión alimenticia y porcentajes de mortalidad general y por síndrome ascítico son diferentes entre los tratamientos con la inclusión de toyocerina.

$H_0: T_1 \neq T_2 \neq T_3 \neq T_4$

H_a : Al menos un tratamiento es igual a los demás tratamientos

Las variables no paramétricas (hipersecreción de moco, necrosis, atrofia de vellosidades, hiperplasia linfoide, infiltración de linfocitos, infiltración de heterófilos, fusión de vellosidades y hemorragias con hiperemia), evaluadas en el microscopio en duodeno, yeyuno e ileon y tonsilas cecales, se sometieron a un análisis estadístico no paramétrico de Kruskal- Wallis(85).

Experimento 3.- Se utilizó un diseño experimental completamente aleatorizado con 750 pollos mixtos Arbor Acres. El experimento consistió de tres tratamientos (0, 75 y 150ppm de toyocerina 10^{10} esporas/gramo) con cinco repeticiones de 50 pollos cada una. Se utilizó un análisis estadístico conforme a un diseño completamente aleatorizado, fue aplicado a las variables de ganancia de peso, consumo de alimento, conversión alimenticia, porcentaje de mortalidad general y porcentaje de mortalidad por síndrome ascítico.

Fueron tomadas muestras de sangre de 3 hembras y 3 machos por tratamiento a las 5 y 7 semanas, a partir de las que se obtuvo el suero para la medición triglicéridos y colesterol. El colesterol y triglicéridos fueron determinados en los Laboratorios de la Subdirección de Nutrición del Instituto Nacional de la Nutrición " Salvador Zubirán" mediante el método enzimático para pruebas *in vitro* en un equipo automático Synchrox Cx®. Para la determinación de triglicéridos, los reactivos utilizados contienen la enzima lipasa que hidroliza los triglicéridos a glicerol y ácidos grasos. Esta reacción es seguida de tres enzimas, la glicerol kinasa (GK), glicerol fosfato oxidasa (GPO), peroxidasa (PO), con la adición de reactivos químicos (4-aminoantipirina (4-AAP) y 3,5-dicloro-2-hidroxibenzeno ácido sulfónico (DHBS) dando como producto un tinte rojo llamado quinonemina que al pasar por el equipo automático Synchrox Cx traduce la absorbancia que emite el tinte rojo de la reacción, la absorbancia es directamente proporcional a la concentración de triglicéridos, la densidad de la coloración se mide en mg/dl. Las reacciones enzimáticas de los reactivos para triglicéridos se da como sigue (86):

Triglicéridos-----lipasa-----Glicerol+Acidos grasos

Glicerol+ATP-----GK-----Glicerol-3-fosfato+ADP

Glicerol-3-fosfato+O2-----GPO-----Dihidroxiacetona+H2O2

2H2O2+4-Aminoantipirina+DHBS*-----PO----Tinta Quinonemina+HCl+2H2O

*DHBS=3,5-dicloro-2-hidroxibenzenosulfonico ácido.

La metodología para la medición de colesterol es similar a la que se realiza con triglicéridos, sin embargo las enzimas de los reactivos son la colesterol esterasa (CE), colesterol oxidasa (CO), peroxidasa (PO) y la adición de fenol y 4-aminoantipirina (4-AAP), compuestos que dan la coloración a las reacciones enzimáticas como se muestra a continuación (87):

Colesterol ester-----CE-----Colesterol+ácidos grasos

Colesterol+O2-----CO-----Colesterol-3-1+H2O2

2H2O2+4-AAP+fenol-----PO-----Quinonemina+H2O

El producto terminal de las reacciones antes descritas es el tinte rojo quinonemina que al pasar por el equipo automático Synchron Cx se determina de la misma manera que en los triglicéridos.

Al día 49 en que finalizó el experimento, fueron sacrificadas por dislocación cervical 15 aves por tratamiento (3 de cada repetición), de las cuales con un colorímetro de reflectancia CR – 300, se midió la coloración amarilla en la piel de la pechuga. Ese mismo día, fueron sacrificadas 16 aves (8 hembras y 8 machos)

de cada tratamiento, las que fueron pesadas en vivo y en canal (sin sangre, plumas, cabeza, vísceras y patas). Se pesó la canal completa y la pechuga para determinar el porcentaje de rendimiento de cada una.

El arreglo factorial para las variables de porcentajes de rendimiento de la canal y de la pechuga así como la coloración de la piel, fue 3×2 ; siendo tres los niveles de toyocerina (0, 75 y 150 ppm 10^{10} esporas /g) y 2 sexos (machos y hembras). El modelo aplicado fue (83):

$$Y_{ijk} = \mu + NT_i + S_j + (NT \times S)_{ij} + E_{ijk}$$

Donde:

Y_{ijk} = Valor de la variable de respuesta (porcentajes de rendimiento en canal y pechuga así como concentraciones de triglicéridos y colesterol en suero correspondiente al i -ésimo nivel de toyocerina (NT) y al j -ésimo sexado (S) en la k -ésima repetición.

μ = Media general poblacional para porcentajes de rendimiento de la canal y pechuga así como concentraciones de triglicéridos y colesterol en suero.

NT_i = Efecto del i -ésimo nivel de toyocerina.

S_j = Efecto del j -ésimo sexado.

$(NT \times S)_{ij}$ = Efecto de la interacción del i -ésimo nivel de toyocerina y del j -ésimo sexado.

E_{ijk} = Error experimental asociado a cada una de las observaciones.

La hipótesis nula planteada (H_0) fue: Los porcentajes de rendimiento en la canal y pechuga, así como las concentraciones de triglicéridos y colesterol en suero son diferentes con la inclusión de toyocerina y son diferentes entre sexos.

$H_0: T_1 \neq T_2 \neq T_3 \neq T_4$

H_a : al menos un tratamiento es igual a los demás tratamientos.

RESULTADOS

Experimento 1

Los resultados promedio obtenidos en 49 días de experimentación de los parámetros productivos, junto con los datos de sus análisis de varianza se encuentran resumidos en el Cuadro 3.

Se puede observar que en la ganancia de peso, no existió interacción toyocerina x sistemas de alimentación. En cuanto a los efectos principales (niveles de toyocerina y sistemas de alimentación), se observó que existió diferencia significativa ($P < 0.05$) en los aumentos de peso con la adición de toyocerina, los pollos que consumieron el probiótico, pesaron 64g más lo que representó un 2.7 % más de crecimiento con la adición de 50 ppm de toyocerina. El peso de los pollos alimentados al libre acceso fue 5.4% mayor ($P < 0.05$) al de los que se les restringió el acceso al alimento. En el consumo de alimento, no hubo efecto a la interacción, ni al empleo de toyocerina, solo existió efecto ($P < 0.05$) al sistema de alimentación; con un mayor consumo en las aves que recibieron la alimentación *ad libitum* respecto a las que fueron restringidas en el tiempo de acceso. En conversión alimenticia no existió diferencia significativa ($P > 0.05$) por la adición del probiótico, al igual que entre los sistemas de alimentación ni tampoco existió efecto de interacción.

En el Cuadro 4, se encuentran los datos promedio y los resultados del análisis de varianza para porcentaje de mortalidad general y por SA. Se puede observar que no hubo efecto ($P > 0.05$) en la mortalidad general, con la adición de toyocerina; sin embargo, si se encontró diferencia ($P < 0.05$) entre los sistemas de alimentación, notándose 75% menor mortalidad general en las aves que fueron restringidas. La inclusión del probiótico, al igual que la restricción de alimento disminuyeron significativamente 83% y 68% respectivamente ($P < 0.05$) la mortalidad por SA.

En el Cuadro 5, se muestran los resultados de los análisis de varianza y los datos obtenidos para la coloración (luminosidad, amarillamiento y enrojecimiento), en la piel de la pechuga de los pollos medidos con un colorímetro de reflectancia en el sistema CIELab. Se puede observar que no existió diferencia estadística ($P > 0.05$), en cuanto a luminosidad obtenida con y sin la adición de toyocerina, al igual que entre los sistemas de alimentación empleados. En el amarillamiento de la piel hubo efecto ($P < 0.07$), notándose un mayor color con la adición de toyocerina, pero entre los sistemas de alimentación no existió diferencia estadística. Para el enrojecimiento de la piel también existió efecto ($P < 0.08$) con la adición del probiótico, pero entre sistemas de alimentación no existió diferencia.

Experimento 2

Los resultados promedio obtenidos en los 49 días de duración del experimento; así como, los análisis estadísticos se muestran en el Cuadro 6. Para ganancia de peso se encontraron diferencias estadísticas ($P < 0.05$) entre tratamientos, notándose un efecto lineal, a medida que aumentó el nivel de toyocerina mejoró la ganancia de peso. En la figura 1, se muestra la ecuación lineal que explica el efecto de la toyocerina, observándose claramente como la ganancia de peso aumentó a razón de 1.16 gramos por cada 1ppm de toyocerina adicionada. En consumo de alimento, no existió diferencia estadística. En conversión alimenticia, tampoco existió diferencia ($P > 0.05$) entre tratamientos. Sin embargo; se observa una tendencia a mejorarse la conversión con el empleo del 100 y 150 ppm de toyocerina en la dieta. Igualmente se aprecia en el Cuadro 6, que no hubo diferencia ($P > 0.05$) entre tratamientos en la mortalidad general y la mortalidad por SA.

Se observaron en los resultados de histopatología a los 49 días de edad en todos los tratamientos; las lesiones de: hipersecreción de moco, necrosis, atrofia de

vellosidades, hiperplasia linfoide, infiltración linfocitaria, infiltración de heterófilos, fusión de vellosidades y hemorragias e hiperemia de intestino delgado y tonsilas cecales sin diferencia estadística entre tratamientos ($P > 0.05$). Los datos se muestran en el Anexo 1, con el porcentaje de animales que presentaron las lesiones antes señaladas.

Experimento 3

Los resultados de los análisis de varianza de ganancia de peso, consumo de alimento, conversión alimenticia, porcentajes de mortalidad general y por SA a los 49 días de edad se presentan en el Cuadro 7. Para cada una de las variables mencionadas, no se observó ningún efecto con la adición de diferentes niveles de toyocerina (0, 75 y 150 ppm). Para el porcentaje de mortalidad por SA, solo se observó una tendencia ($P < 0.12$) a ser menor en los tratamientos en que se adicionó la toyocerina.

En el Cuadro 8, se muestran los resultados a los 49 días junto con los datos del análisis de varianza para el amarillamiento de la piel, porcentaje de rendimiento de la canal y de la pechuga. Los datos de coloración amarilla en la piel de la pechuga, no mostraron diferencia significativa a la inclusión de niveles crecientes del probiótico. El porcentaje de rendimiento de la canal tendió a ser mayor ($P < 0.09$) con la adición de toyocerina, no existió efecto en el factor sexo, así como al efecto de interacción. Para el porcentaje de rendimiento de pechuga solo existió diferencia ($P < 0.01$) al factor sexo, con un mayor rendimiento en machos respecto a las hembras, sin existir diferencias significativas en los otros factores.

Los datos obtenidos a los 35 y 49 días de edad en cuanto a la determinación de triglicéridos y colesterol en suero, junto con los resultados del análisis de varianza, se encuentran resumidos en el Cuadro 9. Se puede ver que existieron diferencias ($P < 0.05$) a los 35 días de edad entre los diferentes niveles de toyocerina y entre

sexos (machos y hembras) respectivamente en cuanto al nivel de triglicéridos y colesterol, notándose un mayor contenido en las hembras. De igual manera, se puede apreciar que hubo efecto ($P < 0.01$) a la adición del probiótico en el contenido de triglicéridos y colesterol, los niveles se redujeron al incrementar la toyocerina en la dieta. Estos resultados indican que el empleo de toyocerina en la dieta, disminuyó la concentración de triglicéridos y colesterol en el suero, y así mismo las hembras presentaron una mayor concentración de triglicéridos y colesterol en su suero con respecto a los machos.

Los resultados a los 49 días de edad para triglicéridos fueron diferentes ($P < 0.01$) entre niveles de toyocerina y entre sexos. Para colesterol hubo efecto ($P < 0.01$) al nivel del probiótico, este efecto se observó también en machos y hembras.

En el Cuadro 9, se podrá notar una disminución tanto en la concentración de triglicéridos como en colesterol al aumentar la edad del ave. Igualmente se puede observar un decremento en la concentración de triglicéridos y colesterol en suero, al emplear toyocerina en la dieta en ambas edades (35 y 49 días de edad). De la misma manera, se muestra una disminución de triglicéridos y colesterol al aumentar la edad del ave entre sexos, indicando una mayor concentración en hembras que en machos (Fig. 2,3,4 y 5). Se puede observar que los datos de colesterol a las 7 semanas mostraron en hembras y machos un valor menor en el nivel más alto de toyocerina (Fig. 3). Para la concentración de triglicéridos, a las 5 se semanas se redujo gradualmente con el nivel de toyocerina en las machos pero no en las hembras (Fig. 4) con la adición de toyocerina. Sin embargo, a las 7 semanas, se disminuyó gradualmente la concentración de triglicéridos con el nivel de toyocerina en las hembras pero no en los machos (Fig. 5).

DISCUSIÓN

Parámetros Productivos

En el Experimento 1, los resultados referentes a la ganancia de peso de pollos mixtos mostraron un efecto significativo a la adición del probiótico representando un 2.7% más de peso vivo. En el Experimento 2, hubo efecto lineal ($P < 0.05$) a la adición de toyocerina (0, 50, 100, 150 ppm) sobre la ganancia de peso de pollos machos con 150 ppm hubo un 7.5% más de crecimiento. Los resultados en el Experimento 3, mostraron numéricamente mejor ganancia de peso (2.5%) de los pollos mixtos en el tratamiento con 150 ppm; el porcentaje fue similar al encontrado en el Experimento 1 con la adición de 150 ppm toyocerina. Wolke *et al* (88) al administrar (0, 50, 75 y 100 $\times 10^9$ esporas/ton de *Bacillus natto*), encontraron efecto ($P < 0.05$) a la adición del probiótico. En otro estudio con dosis elevadas de lactobacilos (0, 500, 1000 y 1500 ppm con 1×10^9 células/gramo) se obtuvo efecto de un mayor crecimiento hasta el nivel de 1000 ppm (5).

En los estudios realizados se han utilizado diferentes probióticos, cabe señalar que los resultados entre experimentos, son inconsistentes sobre el uso de probióticos en la producción animal, ya que los datos han sido contrastantes en cuanto a su uso como promotores del crecimiento. Puede ser debido lo anterior a variaciones en la eficacia de los diferentes probióticos, por las diferencias de las especies de microorganismos utilizados o bien a los métodos de preparación, estabilidad y a características del propio microorganismo (resistencia al pH del proventrículo, adherencia física, multiplicación en la superficie intestinal y secreción de sustancias como ácido láctico y antibióticos propios del microorganismo) que permiten la supervivencia en el tracto gastrointestinal; así como, a factores estresantes, como el clima y manejo (5).

Los datos de algunas investigaciones indican una tendencia a mejorar el peso en las aves que consumen dichos probióticos; sin embargo, en este trabajo la ganancia de peso en pollos mixtos solo fue del 2.7% más de peso, contra un 4% que han obtenido en otros estudios con el uso de antibióticos como promotores del crecimiento en dietas para pollos de engorda (1). Estos últimos autores señalan que los resultados de muchos estudios, han mostrado un efecto promotor del crecimiento más favorable para el ave con los antibióticos que con los probióticos (58,69,70,72,73,74).

En el consumo de alimento de 0 a 49 días no existió diferencia significativa ($P > 0.05$) a la adición de toyocerina en los Experimentos 1, 2, y 3; estos resultados concuerdan con los resultados de varias investigaciones (58,69,70,72,73) en las cuales no existieron diferencias ($P > 0.05$) en esta variable. Sin embargo, Wolke *et al.* (88) y Jin *et al.* (5) informan que las aves que consumen probiótico (*Bacillus natto* y *L. acidophilus*) han mostrado un menor consumo de alimento.

Cabe señalar que en el Experimento 1, se observó diferencia ($P < 0.05$) entre sistemas de alimentación, con un mayor consumo de alimento en las aves que llevaron alimentación *ad libitum* respecto a las aves que llevaron una restricción de tiempo de acceso al alimento; este sistema de restricción es empleado en el altiplano Mexicano para reducir el crecimiento de los pollos de engorda, como una estrategia para disminuir la mortalidad por el SA (89).

Los resultados para conversión alimenticia fueron similares entre tratamientos en los Experimentos 1, 2 y 3, pero con una tendencia a mejorarse la conversión en los tratamientos en que se incluyó toyocerina en el alimento. Estos resultados son similares con los señalados por varios investigadores, quienes señalan que no existió diferencia en conversión alimenticia (69,70,72,88).

Cabe mencionar que algunas investigaciones informan, que la conversión alimenticia se mejoró cuando los probióticos se adicionaron junto con antibióticos

tales como (nitrovin+*Bacillus toyoi*) y (*L. acidophilus*, *L. casei*+Flavofosfolipol) (69,72).

Otros estudios revelan en sus resultados una mejoría en la conversión alimenticia significativa al incluir probióticos en la dieta, resultados que no se observaron en experimentos realizados por varios investigadores (5,73,81).

Los probióticos han sido usados como alternativa a los antibióticos en la producción animal. Sin embargo, los resultados con el uso de probióticos en el alimento en pollos de engorda como promotores del crecimiento no han sido consistentes. Existen investigaciones que reportan datos con mejores parámetros productivos en cuanto a su uso como promotor del crecimiento (56,59,72,90). Pero en algunas investigaciones revelan información sin efecto alguno en dichos parámetros (40,58,60).

El porcentaje de mortalidad general en los 3 experimentos fue similar ($P > 0.05$) entre los tratamientos que se evaluaron, sin existir efecto a la adición de toyocerina; estos resultados son similares a los publicados con empleo de probióticos en dietas para pollos de engorda (5,58).

En el caso del Experimento 1, existió diferencia ($P < 0.05$) en mortalidad general, con una menor mortalidad en los pollos que recibieron una alimentación restringida versus con alimentación *ad libitum*. Esta reducción en la mortalidad es debido al menor crecimiento de los pollos, ya que con una restricción de tiempo al acceso al alimento, el ave se somete a una menor actividad metabólica oxidativa (91,92).

En lo que respecta al porcentaje de mortalidad por SA, los resultados obtenidos en el Experimento 1, indicaron ($P < 0.05$) menor mortalidad con la adición de toyocerina y con el sistema de alimentación con restricción de tiempo al acceso al

alimento. En el Experimento 3, hubo tendencia ($P < 0.12$) a menor mortalidad por SA con la inclusión del probiótico en la dieta. En las investigaciones realizadas con probióticos en dietas para pollos de engorda no se señalan datos sobre el porcentaje de mortalidad por SA. En México, es común el uso de programas de restricción de tiempo de acceso al alimento en granjas comerciales, como paliativos para el control de mortalidad por SA. La disminución en la mortalidad por este síndrome, se presenta en la medida que se tiene menor número de horas de acceso al alimento y se inicia a una edad temprana (91).

En los pollos alimentados con toyocerina en los tres experimentos se notaron menores signos respiratorios a la respuesta postvacunal, dado que los probióticos ejercen su acción produciendo cambios benéficos en la flora intestinal, disminuyendo la población de *E. coli* y a su vez se reduce la producción de toxinas de esta bacteria, microorganismo implicado en enfermedades respiratorias, las cuales predisponen a la incidencia del síndrome ascítico (33,42). Es probable que por esta razón la mortalidad por SA haya sido menor. Por otro lado, los probióticos producen sustancias que actúan como antibióticos llamadas "Bacteriocinas" entre ellas (subtilin, nisina, lactocidin, acidolin) y peróxido de hidrógeno que actúan contra bacterias gram positivas y negativas alterando la permeabilidad de la membrana celular, al inhibir el paso del potasio y el transporte de ATP, quizás por estas razones se pudo haber disminuido en parte la mortalidad por SA (19).

Los resultados del Experimento 3, en cuanto el porcentaje de rendimiento de la canal mostraron un efecto mayor ($P < 0.01$) a la adición de toyocerina, estos resultados, no coinciden con los datos informados por algunos investigadores (58,70,81); quienes no encontraron diferencias significativas ($P > 0.05$) en el rendimiento de la canal con la inclusión de probióticos. En el porcentaje de rendimiento de pechuga en el Experimento 3, se encontró efecto de sexo ($P <$

0.01), con un mayor rendimiento en los machos versus hembras; estos resultados, han sido obtenidos por varios investigadores.

El estudio histológico, mostró lesiones que denotaban enteritis de grado leve, que no fue diferente con y sin la adición de toyocerina. Esto puede atribuirse a que el probiótico no logró impedir la infección por exclusión competitiva o bien, la enteritis fue el efecto causado por otro tipo de agentes tóxicos, virales o parasitarios (33).

Pigmentación de la piel

Los datos promedio obtenidos en el Experimento 1, para el amarillamiento y el enrojecimiento de la piel, indicaron efecto ($P < 0.05$) a la adición de toyocerina, cabe señalar que no existió diferencia ($P > 0.05$) entre los sistemas de alimentación, ni tampoco existió efecto de interacción para amarillamiento, enrojecimiento y luminosidad. Esta variable, no ha sido evaluada por otros autores en investigaciones realizadas en pollos con la utilización de probióticos en la dieta, posiblemente debido a la poca importancia que tiene en algunos países la pigmentación en piel de los pollos; sin embargo, este efecto puede deberse a que el ave al consumir probiótico en su dieta, mejora el equilibrio de la microflora y con esto el estado de salud del intestino, lo que permite una mayor absorción de pigmentos (26). En el Experimento 3, al evaluar el amarillamiento de la piel, no se encontró efecto ($P > 0.05$) a la adición de toyocerina.

Colesterol y triglicéridos

Los resultados para colesterol y triglicéridos séricos a los 35 días de edad de los pollos, mostraron efecto significativo tanto a la adición del probiótico como al factor sexo ($P < 0.001$). Es importante señalar que la determinación de triglicéridos no ha sido evaluada a los 35 días por los investigadores (73). Algunos autores, mencionan en pollos de 42 días de edad una reducción de triglicéridos en suero

de 39 a 32 micromoles/litro (testigo vs tratamiento con *B. Subtilis*). Sin embargo, en el contenido de colesterol no encontraron diferencia entre aves tratadas con y sin probiótico en la dieta. La información de la disminución de colesterol a los 35 días concuerda en parte con los resultados publicados por Jin *et al.* (5) quienes demostraron un decremento de 128 mg/dl a 106 mg/dl en las dietas que contenían (0 y 500ppm de *L. Acidophilus*) en pollos de 40 días de edad; sin embargo no determinaron el contenido de colesterol entre sexos, por lo que no se establecen comparaciones con el presente estudio.

Los niveles de triglicéridos y colesterol en suero a los 49 días de edad, mostraron efecto al nivel de toyocerina y al factor sexo. Algunos investigadores (73), han determinado los triglicéridos a los 42 días de edad, encontrando una disminución en los tratamientos en que se adicionó probiótico en la dieta, no así en el nivel de colesterol que no presentó diferencia ($P > 0.05$) a la inclusión de probiótico. Los resultados obtenidos para colesterol en el Experimento 3, concuerdan en parte con resultados descritos por Mohan *et al.* (72) quienes encontraron una disminución en el nivel de colesterol en el suero a los 56 días de edad (132 a 93 mg/100ml) en pollos que consumían dietas que contenían (0 y 125ppm) de lactobacilos, determinaron a los 40 días de edad los niveles de colesterol y encontraron valores de (128, 126 y 106 mg/dl) con la adición de (0, 500 y 100 ppm) de *L. Acidophilus* (5).

Este efecto reductor fue similar al que se obtuvo en nuestro experimento (159, 153 y 134 mg/dl) con la inclusión de (0, 75 y 150 ppm) de toyocerina.

Los resultados al ser comparados por edades, indicaron una disminución a los 35 y 49 días de edad, en ambas determinaciones tanto de triglicéridos como de colesterol. La reducción de triglicéridos y colesterol en suero de los pollos con toyocerina en nuestra investigación puede atribuirse a una menor actividad de la Acetil CoA carboxilasa, enzima encargada de sintetizar ácidos grasos. Al decrecer

la actividad de dicha enzima se han encontrado disminuidos los triglicéridos a nivel hepático como lo indican algunas investigaciones (78,79).

Otra de las posibles razones por las cuales disminuyó el nivel de colesterol en suero, es debido a la asimilación de este compuesto por el probiótico, o bien a la precipitación del colesterol con las sales biliares desconjugadas puesto que los lactobacilos y bifidobacterias tienen una actividad desconjugante de las sales biliares, que son eliminadas en heces (93,94). Sin embargo, falta por investigar en distintas edades la determinación de estos compuestos, para poder evaluar a que edad disminuyen sus niveles. A su vez se necesitan realizar más trabajos con un mayor número de muestras séricas en las aves para poder encontrar la razones más científicas, por lo cual se disminuye la concentración de triglicéridos y colesterol en suero al incluir toyocerina en dietas para pollos de engorda.

Esto último es de suma importancia, ya que el contenido de grasa y colesterol de las canales de los pollos de engorda actuales, son características que en exceso pueden causar daño a la salud humana. Los resultados de este estudio con *B. toyoi* (toyocerina), sugieren que este probiótico tiene propiedades hipocolesterémicas; por lo que, su adición a las dietas de pollos podría tener un impacto en la salud del consumidor.

Histopatología

Los resultados de histopatología, en intestino delgado (duodeno, yeyuno e ileon) y tonsilas cecales obtenidos en pollos de engorda en 49 días de edad, no mostraron cambios ($P > 0.05$) con y sin la inclusión de toyocerina. Cabe señalar que no hay publicaciones que reporten datos que indiquen que los probióticos puedan causar algún cambio histológico en dichos órganos, que expliquen el efecto promotor del crecimiento. Pero si se puede corroborar la integridad de la mucosa intestinal, lo que no fue totalmente el objetivo de este estudio.

CONCLUSIONES

De los resultados obtenidos, bajo las condiciones experimentales empleadas se puede inferir lo siguiente:

1. La adición de toyocerina en la dieta de los pollos de engorda mostró un efecto promotor del crecimiento en dos de los tres experimentos
2. El efecto promotor del crecimiento de la toyocerina no pudo ser atribuido a cambios en la estructura histológica del intestino delgado y tonsilas cecales.
3. La inclusión de toyocerina tendió a reducir la mortalidad por síndrome ascítico.
4. La adición del probiótico tendió a mejorar el amarillamiento y enrojecimiento de la piel en los pollos.
- 5 Las hembras presentaron mayor concentración de triglicéridos y colesterol en suero con respecto a los machos a los 35 y 49 días de edad.
6. El probiótico en dietas para pollos de engorda tendió a disminuir la concentración de triglicéridos y colesterol en el suero de los pollos; efecto que debe ser reinvestigado.

LITERATURA CITADA

1. Cuca GM, Avila GE, Pro MA. Alimentación de las Aves 8va ed. Chapingo Edo. De México: Universidad Autónoma Chapingo 1996. p-p(80-82)
2. Krinke AI, Jamroz D. Effects of feed antibiotic avoparcin on organ morphology in broiler chicken 1996;75:705-710.
3. Leeson S, Summers JD Ferguson AE. Efficacy of avoparcin as a growth promoter for broiler chickens Canadian J of Anim Sci 1980;60:675-679.
4. Dafwang II, Bird HR, Sunde ML. Broiler chick growth response to antibiotics, Poult Sci 1984;63:1027-1032.
5. 3. Jin ZL, Ho WY, Abdullah N, Jalludin S. Growth performance, intestinal microbial populations, and serum cholesterol of broilers fed diets containing *Lactobacillus* cultures. Poult Sci 1998;77:1259-1265.
6. Jerningan MA, Miles RD, Arafa AS. Probiotics in poultry nutrition. A review. World Poult Sci J 1988;41:99-107.
7. Mulder RWA. Probiotics as a tool against *Salmonella spp* contamination. Misset World Poult 1991;7:36-37.
8. Ojeniyi AA. Public health aspects of bacterial drug resistance in modern battery and battery and town village poultry in the tropics. Acta Veterinaria Scandinavica 1989;30:127-132.
9. Parker RB. Probiotics, the other half of the antibiotics story. Anim Nutr Health 1974;29:4-8.
10. Fox SM. Probiotics: intestinal inoculants for production animals. Vet.Med 1988;83:806-830.
11. Fuller R. Ecological studies on the *lactobacillus* flora associated with the crop epithelium of the fowl. J Appl 1973;36:131-139.
12. Havenaar R, Huis JHJ. Probiotics: A general view. In the lactic acid bacteria. Elsevier Applied Sci. 1992;1:151-170

13. Havenaar R, Brink BT, Huis JHJ. Selection of strain for probiotic use. In probiotics. The Scientific Basis (R. Fuller, ed) 1992: 209-224. Chapman and Hall, London, OK.
14. Fuller R. The importance of lactobacilli in maintaining normal microbial balance in the crop. Br Poult Sci. 1977;18:85-94.
15. Tournut J. Applications of probiotics animal husbandry. Rev Sci Tech off int Epiz 1989;8:551-566.
16. Guilliland and SE. Enumeration and identification of lactobacilli in feed supplements marketed as sources of *Lactobacillus acidophilus*. Anim Sci Report 1981:16-63 Oklahoma Agricultural Experimental Station, US.
17. Impey CS, Mead GC, George SM. Competitive exclusion of salmonellas from chick caecum using a defined mixture of bacterial isolates caecal microflora of an adult bird. J Hyg Camb 1982;89:479-490.
18. Promsopone B, Morishita T Y, Aye P P, Cobb C W, Veldkamp A, Clifford J R. Evaluation of an avian-specific probiotic and *Salmonella typhimurium*-specific antibodies on the colonization of *Salmonella typhimurium* in broilers. J of Food Protec 1998;61:176
19. Dicks LMT. Lactic Acid Bacteria: Understanding the Microorganism. The keys to successful use in maximizing anti-coliform and anti-*Salmonella* activity. Biotechnology in the Feed Industry (Alltech) Nicholasville, Kentucky USA: T.P. Lyons, 1993.-180.
20. Fuller R. Basis and efficacy for probiotics. World Poult Sci J 1988;44:1-69.
21. Juven BJ, Meinersmann RJ, Stern NJ. A review. Antagonistic effects of lactobacilli and pediococci to control intestinal colonization by human enteropathogens in live poultry. J Appl Bacteriol 1991;70:95-103.
22. Lloyd-Evans LPM. Probiotics. PJB publications Ltd Richmond, Surrey, UK 1989.
23. Kozasa M. Toyocerin (*Bacillus toyoi*) as growth promotor for animal feeding. Microb Alim Nutr 1986;4:121-135
24. Kozasa M,. Probiotics for animal use in Japan. Rev Sci Tech off int Epiz 1989;8:517-551.

25. Owings WJ, Reynolds DL, Hasiak RJ, Ferket PR. Influence of dietary supplementation with *Streptococcus faecium* M-74 on broilers body weight feed conversion, carcass characteristics and intestinal microbial colonization. *Poult Sci* 1990;69:1257-1264.
26. Jones FT. Use of direct-fed microbials not new; way they work still not clean. *Feedstuffs* 1991;63:17-19.
27. Godoy VO. Patogenicidad de una cepa de *Salmonella gallinarum* en pollos de engorda de 1 día de edad, en una infección experimental (tesis de licenciatura). México (D.F) México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, 1994.
28. Trejo A. Estudio Comparativo de la acción de *Lactobacillus spp* y acidificantes vegetales frente al *Escherichia coli* enterotoxigénico. (tesis licenciatura). Cuautitlán (Edo. De México) México: Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán (QFB). UNAM, 1990.
29. Bailey JS. Factors affecting microbial competitive exclusion in poultry. *Food Technol* 1990;41:88-92.
30. Heyman MR, Ducroci JF, Morgat JL. Horseradish peroxidase transport across adult rabbit jejunum in vitro. *Am J Physiol.* 1982;242:6558-6564.
31. Rolfe RD. Interactions among microorganisms of the indigenous intestinal flora and their influence on the host. *Rev of Infec Dis* 1984;6:573-579.
32. García ID. Evaluación de un probiótico para la prevención de la infectividad y mortalidad por *Salmonella gallinarum* en pollos de engorda de un día de edad. (tesis de licenciatura) México (D.F) México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM. 1995.
33. Calnek BW. Enfermedades de las Aves. 1ª Ed. México D.F:Manual Moderno, 1995.
34. Schneitz C. Research note: Automated droplet application of a competitive exclusion preparation. *Poult Sci* 1992;71:2125-2128.
35. Nurmi E, Rantala M. New aspects of *Salmonella spp* infection in broiler production. *Nature* 1973;241:2100-211.

36. Weinack OM, Snoeyenbos GH, Smyser CF, Soerjadi AS. Competitive exclusion of intestinal colonization of *Escherichia coli* in chicks. *Avian Dis* 1981;25:696-705.
37. Soerjadi Liem AS, Snoeyenbos GH, Weinack OM. Establishment and competitive exclusion of *Yersinia enterocolitica* in the gut of monoxenic and holoxenic chicks. *Avian Dis* 1984;28:256-260.
38. Murata K, Miyazaki H, Masuda S, Takahashi M, Marubashi T, Tadano Y, Takahashi H. Exclusion of intestinal pathogens by continuous feeding with *Bacillus subtilis* C-3102 and its influence on the intestinal microflora in broilers. *Anim Sci Technol* 1996;67:273-280.
39. Ozawa W. Antagonistic effects of *Bacillus natto* and *Streptococcus faecalis* on growth of *Candida albicans*. *Microbiol Immunol* 1978;23:1147-1156.
40. Watkins BA, Miller BP, Neel DH. In vivo inhibitory effects of *Lactobacillus acidophilus* against pathogenic *Escherichia coli* in gnotobiotic chicks. *Poult Sci* 1982;61:1298-1308.
41. Inooka S, Uehara S, Kimura M. The effect of *Bacillus natto* on the T and B lymphocytes from spleens of feeding chickens. *Poult Sci* 1986;65:1217-1219.
42. Leeson S, Summers JD. *Commercial Poultry Nutrition* 2nd ed University Books P.O. Box 1326 Guelph, Ontario, Canada, 1997.
43. Hentges DJ. Gut flora in disease resistance. In *Probiotics the Scientific Basis* CR. Fuller, ed, 87-110. Chapman and Hall, London, UK. 1992.
44. Morishita YT, Aye PP, Harr SB, Cobb WC, Clifford RJ. Evaluation of an avian-specific probiotic to reduce the colonization and shedding of *Campylobacter jejuni* in broilers. *Avian Dis* 1997;41:850-855.
45. Conway P. Lactobacilli: Fact and fiction in the regulatory and protective role of the normal microflora (R. Grubb, T. Midtvedt and E. Norin, eds) 1989: 263-281 M. Stockton Press, New York, US.
46. Hinton M, Mead GC. *Salmonella spp* control in poultry: The need for the satisfactory evaluation of probiotics for this purpose. *Lett Appl Microbiol* 1991;13:49-50.

47. Nurmi E, Schneitz CE, Mäkelä PH. Process for the production of a bacterial preparation. Canadian Patent No. 1, 151- 166, 1983.
48. Morishita Y, Fuller R, Coates ME. Influence of dietary lactose on the gut flora chicks. Br Poult Sci 1982;23:349-359.
49. Schat KA, Myers TJ. Avian intestinal immunity. Crit Rev Poult Biol. 1991;3:19-34
50. Lebacqz-Verheyden AM, Vaerman JP, Heremans JF. Immunohistologic distribution of the chicken immunoglobulins. J Immunol 1972; 109: 652-654.
51. Barrow PA. Probiotics for chickens. In probiotics. The Scientific Basis (R. Fuller ed)225-257. Chapman and Hall, London UK, 1992.
52. Michard J. Know your probiotics colony count. Feed Int 1991;12:64-68.
53. Sissons JW. Potential of probiotic organism to prevent diarrhoea and promote digestion in farm animals a review. J of the Sci of Food and Agric 1989;49:1-13.
54. Black BL, Jones FT, Qureski MA, Brake J. Effect of a direct fed microbial compound on the intestinal physiology of heat stressed broilers inoculated with *Salmonella typhimurium*. Poult Sci 1993;72:136.
55. Miles RD, Bootvella SM. Direct-fed microbials in animal production "avian". A review of literature 1991;117-146. NFIA, West Des Moines, Iowa, US.
56. Tortuero F. Influence of the implantation of *Lactobacillus acidophilus* in chicks on the growth, feed conversion, malabsorption of fats syndrome and intestinal flora. Poult Sci 1973;52:197-203.
57. Couch JR. Poultry researchs outline benefits of bacteria, fungistatic compounds, other fecal additives. Feedstuffs 1978, April 3 p.6.
58. Wanbeke FV, Peeters J. The effect of paciflor® on the performances, carcass composition and caecal bacterial numbers of broilers. Archiv Geflugelk 1995;59:125-129.
59. Arends LG. Influence of *Lactobacillus acidophilus* administred via drinking water on broilers performance. Poult Sci 1981;60:1619.

60. Burkett RF, Thayer RH, Morrison RD. Supplementing market broiler rations with *Lactobacillus* and live yeast cultures. Anim Sci Agric Res Report 1977, Oklahoma State University and USDA, US.
61. Casas IA, Edens FW, Dobrogoz WJ, Parkhurst CR. Performance of GAIA Feed® and GAIA spray®: A *Lactobacillus reuteri*-based probiotic for poultry. In Flair No 6 Prevention control of potentially pathogenic microorganisms in poultry and poultry meat processing. 1993: 67-71. COVP-DLO Het Spel der holt, D.A Beekbergen, Netherlands.
62. Mazurkiewicz M, Jamroz D, Gawel A, Wieliczko A, Klimentowski S, Majed JA. The effect of probiotics Biogen® on productional effects and physiological parameters of slaughter chickens. Medycyna Wet 1992;48:368-371.
63. Han IK, Lee SC, Lee JH, Kim JD, Jung PK, Lee JC. Studies on the growth promoting effects of probiotics II. The effects of *Clostridium butyricum* on the performance and the changes in the microbial flora of the feces and intestinal contents of the broilers chicks. Korean J Anim Sci 1984;26:158-165.
64. Guillot JF, Jule S, Yvore P. Effect a strain of *Bacillus* used as a probiotic against *Salmonella* carriage and experimental coccidiosis in chickens. Microecol Therapy 1990;20:19-22.
65. Ibanez C. The use of probiotic and zinc bacitracin in the diet of commercial layers. Poult Sci 1990;69:65.
66. Goren E, de Jong WA, Doornenbal P, Bolder NM, Mulder RWA, Jansen A. Reduction of *Salmonella* infection of broilers by spray application of intestinal microflora: a longitudinal study. Veter Quarterly 1988;10:249-255.
67. Schneitz C, Nuotio L, Kiiskinen T, Nurmi E. Pilot-scale testing of the competitive exclusion method in chickens. Br Poult Sci 1991; 32: 881-884..
68. Dilworth BC, Day EJ. *Lactobacillus* culture in broiler diets. Poult Sci 1978;57:1101.
69. Morales BE, Avila GE, Sánchez CF. Evaluación del *Bacillus toyoi* y nitrovin en dietas para pollos de engorda. Memorias de la XX convención anual ANECA;

- 1995 Mayo 3-7; Acapulco (Guerrero) México. Asociación Nacional de Especialistas en Ciencias Avícolas, A C, 1995:214-219.
70. Baidya N, Mandal L, Sarkar SK, Banerjee GC. Combined feeding of antibiotic and probiotic on the performance of broiler. *Indian Poult Sci* 1994;29:228-231.
71. Kouba M, Catheiline D, Leclercq B. Lipogenesis in turkeys and chickens: A study of body composition and liver lipogenic enzyme activities. *Br Poult Sci* 1992;33:1003-1014.
72. Mohan B, Kadirvel R, Natarajan A, Bhaskaran M. Effect of probiotic supplementation on growth, nitrogen utilisation and serum cholesterol in broilers. *Br Poult Sci* 1996;37:395-401.
73. Santoso BYU, Tanaka K, Ohtani S. Effect of dried *Bacillus subtilis* culture on growth, body composition and hepatic lipogenic enzyme activity in female broiler chicks. *Br Poult Sci* 1995;74:523-524.
74. Abdulrahim SM, Haddadin MSY, Hashlamoun EAR, Robinson RK. The influence of *Lactobacillus acidophilus* and Bacitracin on layer performance of chickens and cholesterol content of plasma and egg yolk. *Br poult Sci* 1996;37:341-346.
75. Danielson AD, Peo EP Jr., Shanini KM, Lewis AJ, Whalen PJ, Amer MA. Anticholerestemic property of *Lactobacillus acidophilus* yogurt fed to mature boars. *J of Anim Sci* 1989;67:966-974.
76. Chah CC, Carlson CW, Semeniuk G, Palmer IS, Hesseltine CW. Growth-promoting effects of fermented soybean for broilers. *Poult Sci* 1975;54:600-609.
77. Goodling AC, Cerniglia GJ, Hebert JA. Production performance of white Leghorn layers fed *Lactobacillus* fermentation products. *Poult Sci* 1987;66:480-486.
78. Hasegawa S, Hatano S, Ushima K, Hikami Y. Effect of fasting on adipose tissue accumulation in chicks, with reference to change in its chemical composition and lipase activity. *Anim Sci and Technol* 1994;65:89-98.
79. Skorve J, Al-Shurbaji A, Asiedu D, Bjorkhem I, Berglund L, Berge R K. On the mechanism of the hypolipidemic effect of sulfur-substituted hexadecanedioic

- acid (3-thiadicarboxylic acid) in normolipidemic rats. J of Lipid Res 1993;34:1177-1185.
80. Haddadin MSY, Abdulrahim SM, Hashlamoun EAR, Robinson RK. The effect of *Lactobacillus acidophilus* on the production and chemical composition of hens eggs. Poult Sci 1996;75:491-494.
81. Jensen JF, Jensen MM. The effect of using growth promoting *Bacillus* strain in poultry feed. Memory Worlds Poultry Congress; 1992 September 20-24; Amsterdam The Netherlands, 1995:398-402.
82. INEGI. Tlahuac: Cuaderno de información básica delegacional. INEGI, México 1992.
83. Gill JI. Design and analysis of experiments in the animal and medical sciences. Vol 1. Iowa: The Iowa State University Press, 1978.
84. Estrada FE, Peralta ZI, Rivas MP. Manual de Técnicas Histológicas. 1ra ed. México D.F: AGT EDITOR S.A, 1982.
85. Zar JB. Bioestadistical analysis. 2nd ed. Ed. Prentice Hall Inc Englewood Cliffs New Jersey, 348-351, 1984.
86. Beckman synchron cx Systems Chemistry Information. Kit Reorder # 445850. Triglycerides GPO Reagent. March 1993. Beckman Instruments Inc.
87. Beckman sinchron cx Systems Chemistry Information. Kit Reorder # 442735 Cholesterol Reagent. March 1993, Beckman Instruments Inc.
88. Wolke LF, Fleming JS, Mira RT. Utilicao do probiótico *Bacillus natto* como promotor de crescimento na alimentacao de frangos de corte. Agrarias Curitiva 1996;15:103-107.
89. Arce MJ, López CC. Programas de alimentación para el control del síndrome ascítico. Memorias de la XV Convención Nacional; 1990 de la Asociación Nacional de Especialistas en Ciencias Avícolas, Cancún Quintana Roo, México, 1990:169-177.
90. Jin LZ, Ho W, Abdulah N, Jalaludin S. Influence of dried *Bacillus subtilis* and *Lactobacilli* cultures on intestinal microflora and performance in broilers Asian-Australian. J Anim Sci 1996;9:397-404..

91. López CC. Suceptibilidad al síndrome ascítico de diferentes estirpes genéticas de pollos de engorda (tesis doctorado) México (D.F) México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM,1998.
92. Arrieta AJM. Efecto de la adición de vitaminas E+C y selenio en la dieta, sobre el estatus oxidativo hepático, comportamiento productivo y presentación del síndrome ascítico en pollos de engorda (tesis maestría) México (D.F) México: Facultad de Medicina Veterinaria Y Zootecnia. UNAM, 1998.
93. Buck LM, Guilliland SE. Comparison of freshly isolated strains of *Lactobacillus acidophilus* of human intestinal origin for ability to assimilate cholesterol during growth. J Dairy Sci 1994;77:2925-2933.
94. Klaver FAM, Van der Meer R. The assumed assimilating of cholesterol by lactobacilli and *Bifidobacterium bifidum* is due to their bielsalt-deconjugating activity. Appl Environ Microbiol 1993;59:1120-1124.

Cuadro 1

**COMPOSICION DE LAS DIETAS EXPERIMENTALES BASALES
EMPLEADAS EN POLLOS DE ENGORDA EN LOS TRES EXPERIMENTOS.**

Ingredientes	Iniciación	Finalización
	Kg/ton	Kg/ton
Sorgo	514.10	565.11
Pasta de Soya	397.75	342.04
Carbonato de Calcio	17.22	15.73
Fosfato de Calcio	17.14	15.16
Aceite vegetal	41.71	46.80
Premezcla de Minerales*	1.00	1.00
Premezcla de Vitaminas*	3.50	3.50
DL-Metionina	2.23	1.76
L-Lisina HCL	0.45	0.00
Cloruro de Colina 60%	0.80	0.80
Sal	3.50	3.50
Antioxidante	0.50	0.50
Anticoccidiano	0.60	0.60
Mold X	0.50	0.50
Pigmento **	0.00	4.00
	Análisis	Calculado
	Iniciación	Finalización
Protéina %	22	20
Lisina %	1.20	1.02
Metionina %	0.55	0.48
Met+cist %	0.90	0.80
Calcio %	1.00	0.90
Fósforo disponible %	0.50	0.45
E. M. Kcal/ Kg	2950	3050

* Vitamina A (12,000,000 UI), Vitamina D3 (2, 500.000 UIP), Vitamina E (15,000UI) , Vitamina K (2.0g) Vitamina B1 (2.25g), Vitamina B2 (7.5g), Vitamina B6 (3.5 g) Vitamina B12 (20 mg), Acido Fólico (1.5g) Biotina (125mg), Ac. Pantoténico (12.5g), Niacina (45g), Hierro (50g), Zinc (50g), Manganeso (110g), Cobre (12g), Yodo (0.30g), Selenio (200mg) , Cobalto (0.20g). Cantidades adicionadas por tonelada de alimento (91).

** 6.0 en finalización en el Experimento 1

Cuadro 2.

CALENDARIO DE VACUNACION EMPLEADO EN LOS 3 EXPERIMENTOS

Edad	Vacuna	Vía	Cepa
8 días	Infección de la Bolsa de Fabricio	Ocular	Lukert
12 días	E. Newcastle	Ocular y subcutanea	La sota
22 días	IBF	Oral	Lukert

CUADRO 3
RESULTADOS DE PARAMETROS PRODUCTIVOS EN 49 DIAS DE EDAD EN POLLOS
DE ENGORDA BAJO 2 SISTEMAS DE ALIMENTACION CON Y SIN TOYOCERINA (Exp. 1)

TRATAMIENTO		GANANCIA DE PESO	CONSUMO DE ALIMENTO	CONVERSION ALIMENTICIA
TOYOCERINA (50 ppm)	SISTEMA DE ALIMENTACION	g	g	kg* kg
CON		2409 c	4856 c	2.06 c
SIN		2345d	4816 c	2.06 c
EEM		53.53	67.35	0.048
	AD LIBITUM	2418 a	4974 a	2.08 c
	RESTRICCIÓN	2294 b	4699 b	2.07 c
	EEM	53.25	54.5	0.048
FUENTE DE VARIACION				
TOYOCERINA		0.029	0.577	0.618
SISTEMA DE ALIMENTACION		0.008	0.002	0.311
TOYOCERINA X SISTEMA DE ALIMENTACION		0.795	0.15	0.250

EEM: Error estandar de la media

CUADRO 4
PORCENTAJES DE MORTALIDAD
A LOS 49 DIAS DE EDAD BAJO 2 SISTEMAS
DE ALIMENTACION CON Y SIN ADICION DE TOYOCERINA (Exp. 1)

TRATAMIENTO		MORTALIDAD GENERAL	MORTALIDAD POR S.A
TOYOCERINA (50 ppm)	SISTEMA DE ALIMENTACION	%	%
CON		4.80c	0.90d
SIN		7.15c	5.07c
EEM		1.99	1.68
	AD LIBITUM	9.55a	4.52a
	RESTRICCIÓN	2.45b	1.45b
	EEM	1.51	1.17
FUENTE DE VARIACION		PROBABILIDAD	
TOYOCERINA		0.344	0.017
SISTEMA DE ALIMENTACION		0.011	0.061

CUADRO 5
COLORACION DE LA PIEL DE LA PECHUGA A LOS 49 DIAS DE EDAD EN
POLLOS BAJO 2 SISTEMAS
DE ALIMENTACION CON Y SIN TOYOCERINA (Exp. 1)

TRATAMIENTO		LUMINOSIDAD	AMARILLOS	ROJOS
TOYOCERINA (50 ppm)	SISTEMA DE ALIMENTACION	L	b	a
CON		71.4	54.60b	1.88b
SIN		70.73	51.70c	0.69c
EEM		0.4	1.06	0.45
	AD LIBITUM	71.2	53.67a	1.27a
	RESTRICCIÓN	70.92	52.63a	1.29a
	EEM	0.62	1.13	0.47
FUENTE DE VARIACION		PROBABILIDAD		
TOYOCERINA		0.281	0.071	0.081
SISTEMA DE ALIMENTACION		0.636	0.519	0.968

CUADRO 6
PARAMETROS PRODUCTIVOS OBTENIDOS CON DIFERENTES NIVELES
DE TOYOCERINA EN POLLOS DE ENGORDA
DE 0 A 49 DIAS DE EDAD (Exp. 2)

TRATAMIENTO	GANANCIA		CONSUMO DE ALIMENTO	CONVERSION ALIMENTICIA	MORTALIDAD GENERAL	MORTALIDAD POR SA
	g	%				
TOYOCERINA (ppm)				kg * kg	%	%
0	2258 ^b		4648	2.06	10.4	6.43
50	2321 ^{ab}		4802	2.07	7.5	3.2
100	2376 ^{ab}		4782	2.01	9.6	6.43
150	2433 ^a		4843	1.99	5.36	3.2
EEM	29.04		58.32	0.022	2.23	0.94
PROBABILIDAD						
FUENTE DE VARIACION						
NIVEL DE TOYOCERINA	0.015		0.339	0.121	0.501	0.195

CUADRO 7
PARAMETROS PRODUCTIVOS OBTENIDOS CON DIFERENTES NIVELES
DE TOYOCERINA EN POLLOS DE 0 A 49 DIAS DE EDAD (Exp. 3)

TRATAMIENTO	GANANCIA DE PESO	CONSUMO DE ALIMENTO	CONVERSION ALIMENTICIA	MORTALIDAD GENERAL	MORTALIDAD POR SA
	g	g	kg * kg	%	%
TOYOCERINA (ppm)					
0	2475	5234	2.11	8.98	5.12
75	2494	5245	2.1	5.12	1.28
150	2536	5274	2.08	10.28	3.2
EEM	26.2	74.3	0.034	1.71	1.14
FUENTE DE VARIACION	PROBABILIDAD				
NIVEL DE TOYOCERINA	0.508	0.623	0.744	0.333	0.165

**ESTA TIENDA NO DEBE
 SALIR DE LA BIBLIOTECA**

CUADRO 8
RESULTADOS DE PIGMENTACION EN LA PIEL Y PORCENTAJES DE RENDIMIENTO
EN LA CANAL Y PECHUGA DE POLLOS EN 49 DIAS DE EDAD (Exp. 3)

TRATAMIENTO		SEXO	PIGMENTOS AMARILLOS	RENDIMIENTO EN CANAL	RENDIMIENTO DE PECHUGA
TOYOCERINA	(ppm)				
	0		b	%	%
	0.75		34.9	56.6	27
	0.15		37.6	56.9	27.3
	EEM		34.7	57.2	27.1
			1.06	0.181	0.254
		MACHOS	ND	56.9	27.73a
		HEMBRAS	ND	56.95	26.66b
		EEM	ND	0.155	0.179
FUENTE DE VARIACION				PROBABILIDAD	
	NIVEL DE TOYOCERINA		0.275	0.093	0.747
	SEXO		ND	0.74	0.0000
	NIVEL DE TOYOCERINA X SEXO		ND	0.946	0.5150

ND: Datos no disponibles

CUADRO 9
CONCENTRACION DE TRIGLICERIDOS Y COLESTEROL A LOS 35 Y 49 DIAS
DE EDAD EN SUERO DE POLLOS ALIMENTADOS CON DIFERENTES
NIVELES DE TOYOCERINA (Exp. 3)

TRATAMIENTO		35 DIAS DE EDAD		49 DIAS DE EDAD	
		TRIGLICERIDOS	COLESTEROL	TRIGLICERIDOS	COLESTEROL
TOYOCERINA (ppm)	SEXO	mg/dl	mg/dl	mg/dl	mg/dl
	0	148a	172a	123a	159a
	75	132ab	164a	117b	153a
	150	122ab	150b	103c	134b
EEM		5.64	2.59	8.55	2.49
	MACHOS	122a	156a	95a	144a
	HEMBRAS	147b	162b	133b	153b
EEM		4.55	3.21	8.99	3.92
FUENTE DE VARIACION					
NIVEL DE TOYOCERINA		0.044	0	0	0
SEXO		0.05	0.009	0	0
NIVEL DE TOYOCERINA X SEXO		0.003	0	0	0

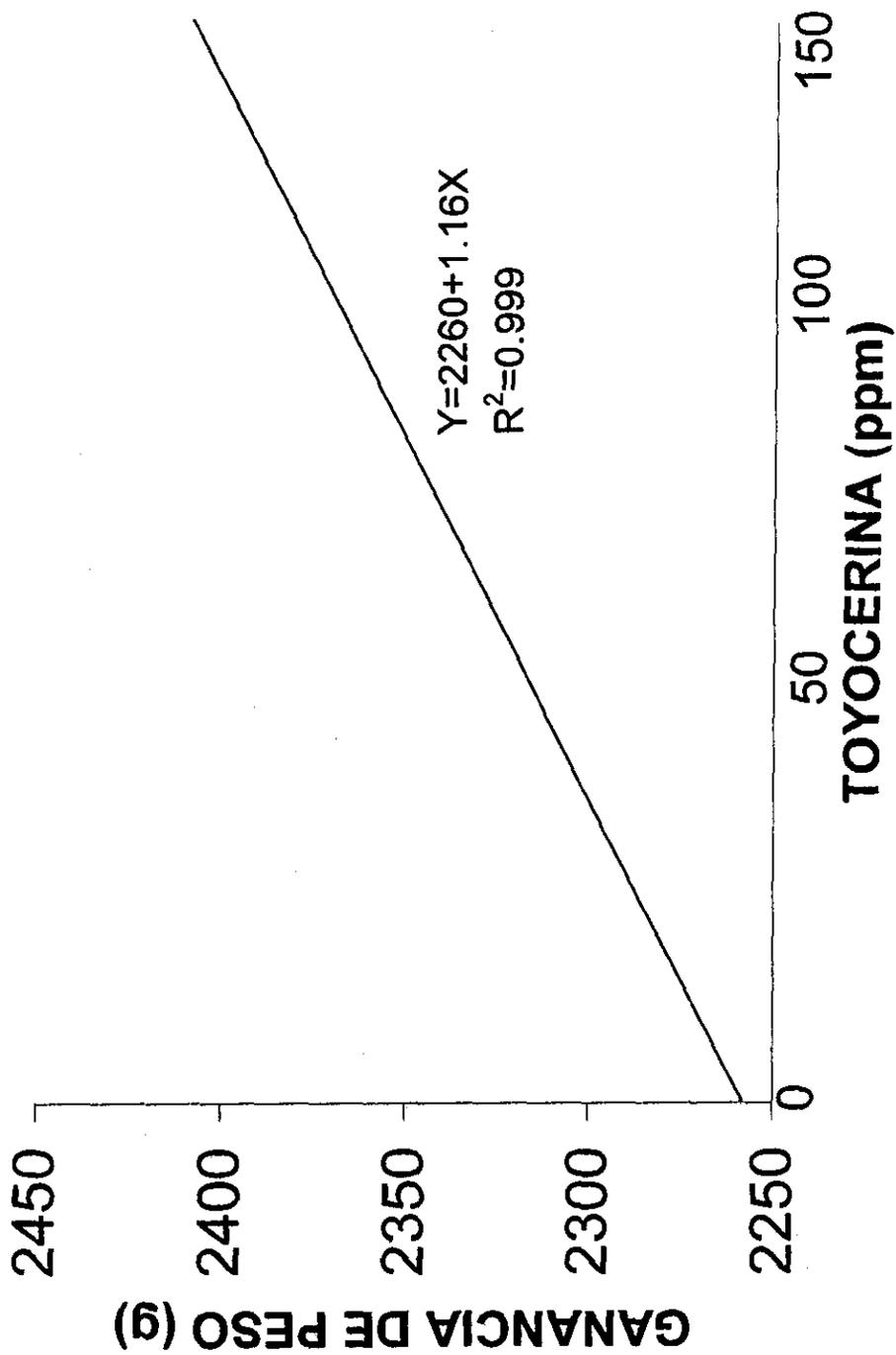
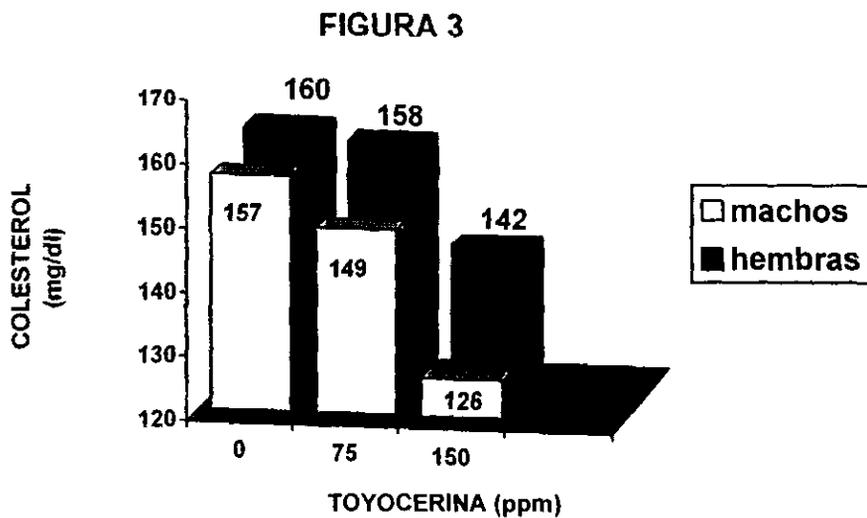
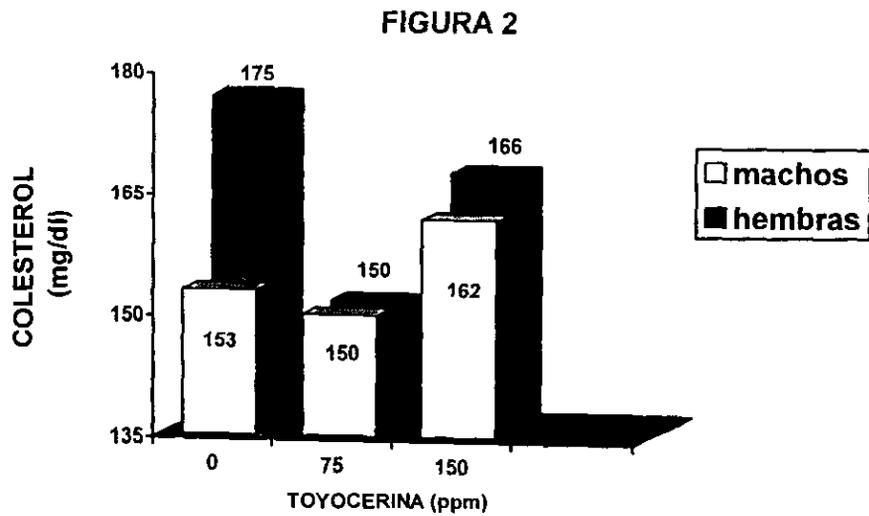


FIGURA I. RESULTADOS EN 49 DIAS DE EDAD EN POLLOS ALIMENTADOS CON TOYOCERINA



Figuras 2 y 3. Concentración de colesterol en suero con diferentes niveles de toyocerina a las 5 semanas de edad (Figura 2) y a las 7 semanas de edad (Figura 3).

FIGURA 4

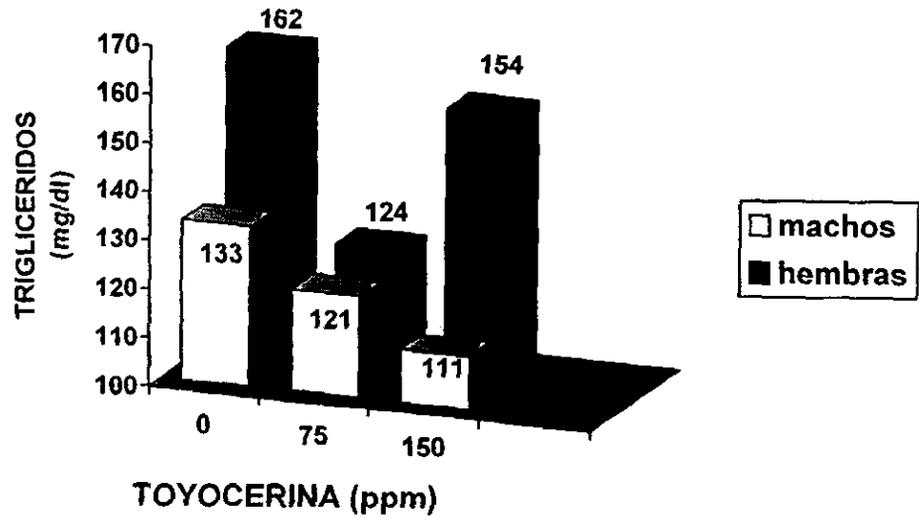
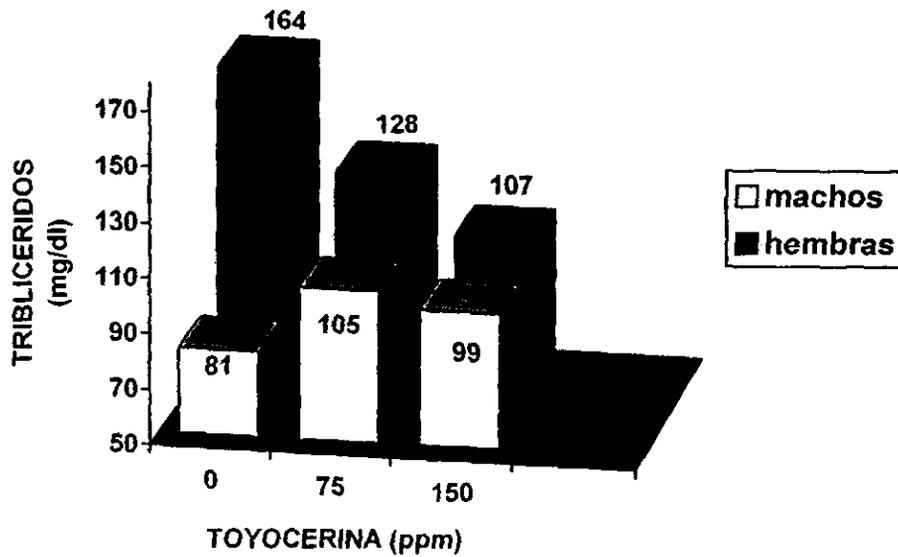


FIGURA 5



Figuras 4 y 5. Concentración de triglicéridos en suero con diferentes niveles de toyocerina a las 5 semanas de edad (Figura 4) y a las 7 semanas de edad (Figura 5).

ANEXO 1
LESIONES EN INTESTINO DELGADO Y TONSILAS CECALES
EN POLLOS DE 49 DIAS DE EDAD ALIMENTADOS CON DIFERENTES
NIVELES DE TOYOCERINA (Exp. 2)

VARIABLES (%)	TOYOCERINA (0 ppm)				TOYOCERINA (50 ppm)				TOYOCERINA (100 ppm)				TOYOCERINA (150 ppm)			
	D	Y	I	TC	D	Y	I	TC	D	Y	I	TC	D	Y	I	TC
HIPERSECRECION DE MOCO)	14	0	50	64	0	0	0	0	9	0	40	67	0	25	71	69
NECROSIS	0	0	0	54	0	0	12	45	9	0	0	67	0	0	0	69
ATROFIA DE VELLOSIDADES	0	0	0	0	0	66	25	0	0	33	40	11	0	0	14	0
HIPERPLASIA LINFOIDE	57	33	0	64	0	0	0	0	27	0	0	44	75	0	0	85
INFILTRACION LINFOIDE	42	50	80	45	91	33	75	0	82	67	100	22	92	100	86	65
INFILTRACION DE HETEROFILO	14	50	40	45	27	0	50	36	45	33	20	33	42	75	28	69
FUSION DE VELLOSIDADES	28	66	80	9	36	33	50	0	36	33	0	0	25	50	14	0
HIPEREMIA Y HEMORRAGIAS	28	17	40	73	18	33	12	54	27	33	60	78	8	25	14	69

D= D DUODENO, Y= YEYUNO, I = ILEON, TC = TONSILAS CECALES.