



Ingeniería Agropecuaria
Facultad Ciencias Agropecuarias

UNIVERSIDAD LAICA ELOY ALFARO DE MANABÍ
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIA
CARRERA INGENIERÍA AGROPECUARIA

TRABAJO DE TITULACION

PREVIA A LA OBTENCION DEL TITULO DE INGENIERO AGROPECUARIO

TEMA:

USO DE PROBIÓTICO *Bacillus subtilis*, DURANTE LA FASE DE FINALIZACION DE POLLOS DE ENGORDE. MONTECRISTI – MANABI –ECUADOR 2018.

AUTOR:

Vélez Mantuano Klever Daniel

TUTOR:

Dr. Ramón Molina Bazurto, Mgs.

MANTA, DICIEMBRE 2018

TRABAJO DE TITULACION

Tema:

USO DE PROBIÓTICO *Bacillus subtilis*, DURANTE LA FASE DE FINALIZACION DE POLLOS DE ENGORDE. MONTECRISTI – MANABI –ECUADOR 2018.

DATOS DEL ESTUDIANTE – AUTOR:

Apellidos: Vélez Mantuano
Nombres: Klever Daniel
Cedula: 131439376-8
Domicilio: Redondel de Colorado, Montecristi.
Teléfono: +593 96 787 5542
Email: klecin.diciembre@gmail.com
Matriculado en la carrera: Ingeniera Agropecuaria
Año de ingreso a la carrera: 2013
Año de egreso a la carrera: 2018

Firma del estudiante

Vélez Mantuano Klever Daniel

Firma del tutor

Dr. Ramón Molina Bazarro, Mgs.

DEDICATORIA

Este trabajo de ardua dedicación, constancia, perseverancia y esmero, del cual no se consigue con el amanecer de un solo día, sino más bien con muchos años de trabajo se ha logrado gracias a la ayuda de mis más allegados, familiares, docentes, tutores y amigos.

Al cumplir una importante meta en mi vida, donde mi esfuerzo se ve reflejado, en este documento de titulación, y de forma muy especial quiero dedicarlo a:

Mis padres, Vélez Romero Daniel Agustín y Mantuano Bermúdez Narcisca Beatriz por haberme dado la vida y una buena educación aconsejándome siempre para seguir adelante, además de su constante apoyo moral, incentivándome a la continuación de mis estudios. A mis hermanos, en especial a Vélez Mantuano Dany Agustín y a su esposa Cedeño Mantuano Rosario Edismenia, por apoyarme y acogerme en su hogar como un hijo y por no dejarme desmallar en los momentos duros de mi vida.

Mi esposa Castro Pin Cindy Heidy por darme su apoyo incondicional para lograr lo que me propongo. De igual forma deseo mencionar en esta dedicación a sus padres; Castro Pérez Pedro Gonzales y Pin Quiroz Digna Dominga; por brindarme apoyo moral e incondicional, y considerarme como uno más de sus hijos incentivándome fuerzas y ánimo para seguir adelante y alcanzar mis más bellos y anhelados logros.

AGRADECIMIENTO

Principalmente agradezco a Dios, por darme la vida y bendecirme en los momentos duros que he pasado para lograr esta meta.

Agradezco por todo el apoyo continuo que he recibido de mis tutores y docentes que me han formado durante estos cinco años de estudios. Pero además de forma especial, quiero agradecer a:

Mi tutor Ramón Molina Bazurto, por su constante guía y apoyo.

Al Ingeniero Churchill Aveiga Villacis, por haberme invitado a formar parte de esta investigación.

Al ingeniero Ángel Guzmán Cedeño, por haberme instruido, con mucha paciencia y dedicación, para la elaboración de mi trabajo de titulación.

Al ingeniero Marlon Castro García por su constante apoyo y ayuda para los trabajos realizados en laboratorio para esta investigación.

A la dedicación presentada por los docentes miembros del tribunal examinador de este trabajo de titulación; Dr Excequiel Cardenas, Ing. Horley Cañarte y Ing. José Chinga.

INDICE

DEDICATORIA.....	III
AGRADECIMIENTO.....	IV
INDICE.....	V
CAPÍTULO I: ANTECEDENTES.....	1
1.1. Planteamiento y formulación del problema.....	1
1.2. JUSTIFICACIÓN.....	3
1.3. OBJETIVOS.....	4
1.3.1. Objetivo general.....	4
1.3.2. Objetivos específicos.....	4
1.4. HIPÓTESIS.....	5
1.4.1. Hipótesis nula (Ho).....	5
1.4.2. Hipótesis alternativa (Ha).....	5
1.5. VARIABLES.....	5
1.5.1. Variable independiente.....	5
1.5.2. Variable dependiente.....	5
CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO.....	6
2.1. POLLO BROILER (Origen del Rock-Cornish).....	6
1.1.1 Nutrientes que aporta la carne de pollo.....	7
1.1.2 Morfología del tracto digestivo.....	8
1.1.3 Parámetros productivos valorados en el pollo de engorde.....	8
2.2. EFECTOS DE LOS ANTIBIOTICOS EN LA PRODUCCION ANIMAL.....	9
2.3. SIMBIÓTICOS.....	10
2.4. DEFINICION DE PROBIOTICO.....	11
2.4.1. Acción de los probióticos en el tracto gastrointestinal (TGL).....	11
2.4.2. Microorganismos empleados como probióticos.....	12
2.4.3. Clasificación taxonómica del (<i>Bacillus subtilis</i>).....	13
La clasificación taxonómica de la bacteria <i>B. subtilis</i> es la siguiente:.....	13
2.4.4. Uso del <i>B. subtilis</i> , como probiótico en la avicultura.....	13
2.4.5. Dosificaciones adecuadas, del <i>B. subtilis</i> , como probiótico.....	14
CAPÍTULO III: DISEÑO METODOLÓGICO.....	15

3.1	Localización y duración de la investigación.....	15
3.1.1	Espacial.....	15
3.1.2	Temporal (período).....	15
3.2	Condiciones meteorológicas	15
3.2.1	Relieve	15
3.2.2	Hidrografía.....	16
3.2.3	Topografía	16
3.2.4	Clima	16
3.2.5	Precipitación.....	17
3.3	DISEÑO EXPERIMENTAL.....	17
3.3.1	Factor en estudio.....	17
3.3.2	Diseño Experimental.....	18
3.3.3	Numero de Tratamientos y Repeticiones	18
3.4	Análisis Estadísticos:	19
3.4.1	Esquema Análisis de Varianza	19
3.4.2	Características de la unidad experimental (Población).	19
3.5	MANEJO DEL EXPERIMENTO	20
3.5.1	Descripción del experimento.....	20
3.5.2	Distribución de los tratamientos.....	21
3.1.1.	Materiales y equipos de medidas.....	23
3.1.2.	Técnicas de investigación.....	23
3.6	DATOS ANALIZADOS Y METODOS DE EVALUACIÓN.....	24
4.	CAPITULO IV: RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	27
4.1	Consumo de agua semanal.....	27
4.2	Consumo de alimento semanal	28
4.3	Ganancia de peso semanal.....	30
4.4	Índice de Conversión Alimenticia semanal (ICA).....	32
4.5	Factor de Eficiencia Americana (FEA).....	35
4.6	Peso al sacrificio de canal y vísceras	35
4.7	Estudios de laboratorio.....	37
4.8	Mortalidad	38
5.	CAPITULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	40

5.1. Conclusiones.....	40
5.2. Recomendaciones.....	41
6. Bibliografía.....	42
7. Anexos.....	44

CAPÍTULO I: ANTECEDENTES

1.1. Planteamiento y formulación del problema.

Según los aportes de Fajardo-Zapata et al. (2011), los antibióticos han logrado un incremento en la producción animal de interés alimentario. Además, los residuos de estas sustancias usadas logran quedar en la carne que se predestina para el consumo humano y crean alteraciones en el estado de salud de quienes la consumen. Así mismo, Acevedo et al. (2015), precisan que estos residuos consiguen llegar al consumidor a través de la cadena alimenticia causando reacciones alérgicas, resistencia bacteriana, alteración de la flora bacteriana intestinal. En este sentido, es preciso decir que genera un desequilibrio en la salud del huésped o consumidor.

Pacheco (2012) menciona que las alteraciones causadas por el uso excesivo de antibióticos son: facilidad al establecimiento de patógenos, pues el cuerpo, actúa como un reservorio de cepas resistentes, ya que los genes son transferidos desde temprana infancia. Además provocan una elevación en la concentración de anticuerpos. Contribuye a la alta incidencia de enfermedades atópicas y alérgicas. Asimismo generan cambios en la microbiota intestinal; por otra parte inciden en la aparición de enfermedades isquémicas, las mismas que se restablecen cuando se administran probióticos.

En Ecuador los aportes de Arévalo (2016), precisan que el uso de antibióticos de manera indistinta realizado en experimentos en el comportamiento productivo de pollos de engorde tuvo como resultado la generación de resistencia a través de genes que codificaron enzimas encontradas en el cromosoma bacteriano. Esto, tiene como consecuencia permitir su fácil transferencia entre diferentes bacterias. Con base en lo anterior se considera excluir en la alimentación animal el uso de antibióticos promotores de crecimiento.

Los aportes de Gutiérrez, et al. (2015), exponen que los sistemas avícolas de pollos de engorde se caracterizan por manejar altas densidades en búsqueda de un mayor rendimiento productivo de carne por área de confinamiento, situación que favorece el estrés animal y por ende los bajos rendimientos zootécnicos. Es así que, la producción de pollos es una causa de carácter significativa en el uso intensivo de antibióticos tales como: la alimentación, promotores de crecimiento, tratamiento de infecciones y enfermedades individuales o colectivas.

Se considera que la eliminación del uso de antibióticos como promotores del crecimiento, debería ser el camino a seguir. No obstante, se deben buscar nuevas alternativas a la producción animal como es el uso de probióticos los cuales no dejan residuos en las carnes de consumo.

En este sentido, Gutiérrez (2017), realizó estudios respecto a efecto simbiótico a base del *Bacillus subtilis* en pollos Cobb 500 en el cantón Bolívar de la provincia de Manabí y mostró que los probióticos, aparecen como iniciativas muy destacadas en relación a la utilización de antibióticos en animales y como una solución promotora de la calidad y de la seguridad nutricional; además, son totalmente seguros para los animales, los consumidores y el medio ambiente, y su eficacia está respaldada por numerosos estudios. Se considera que esto debe adecuarse a una respuesta respecto al manejo indiscriminado de antibióticos en la producción animal.

Por lo expuesto se plantea la siguiente pregunta: ¿Qué dilución del probiótico *Bacillus subtilis* mejora los parámetros productivos del pollo de engorde Cobb 500?

1.2. Justificación

En Ecuador, la ciudadanía expresa su interés en fortalecer el sistema productivo mediante acciones que permitan la generación de empleo y estabilidad laboral. En este sentido, el Estado Ecuatoriano a través de la Estrategia Nacional para el Buen Vivir Rural, propone que es a través del Estado se debe fomentar así como proteger la producción generada por unidades de producción campesina lo que permitirá el desarrollo de sus capacidades productivas, motivará la producción de alimentos de consumo nacional, sanos, saludables (SENPLADES, 2017).

Según Gutiérrez (2017), existen microorganismos que son usados como probióticos, entre ellos: el *Bacillus cereus*, *B. licheniformis*, *B. subtilis*, *Enterococcus faecium*, *Lactobacillus faciminis* y *Saccharomyces cerevisiae*, estos fueron autorizados como nuevos aditivos en la alimentación. Todas estas cepas demostraron efectos positivos en diferentes hospederos, sobre todo en el incremento de los parámetros productivos y en una mejor condición sanitaria. En otras palabras se pretende mitigar los efectos ocasionado por los antibióticos con uso de probióticos.

Por lo tanto, el presente estudio detalla aportes favorables y desfavorables de probióticos de la especie del *B. subtilis* suministrada como promotor de crecimiento en pollos de engorde durante su ciclo de vida, valorando los cambios más notorios presentados en la etapa de finalización sobre los aspectos productivos, tales como: ganancia diaria de peso, peso de la canal, peso final, rendimiento de canal, conversión alimenticia y el factor de eficiencia productivo,

La parte experimental de este trabajo se desarrolló en la finca experimental “Los Bajos” del cantón Montecristi, pertenecientes a la Universidad Laica Eloy Alfaro de Manabí.

1.3. OBJETIVOS

1.3.1. Objetivo general

Analizar el efecto de probiótico (*Bacillus subtilis*), durante la fase de finalización.

1.3.2. Objetivos específicos

- Determinar los efectos presentados en los tratamientos con probiótico, frente al grupo de control.
- Comparar los tratamientos en estudio
- Establecer la dilución óptima del probiótico que mejore los parámetros productivos, durante la etapa de finalización del pollo de engorde.
- Evaluar mediante pruebas de laboratorio, la existencia de cambios patológicos entre los tratamientos probióticos frente al grupo control.

1.4. HIPÓTESIS

1.4.1. Hipótesis nula (Ho)

La inclusión de probióticos *Bacillus subtilis* en el agua de bebida, no incrementan la ganancia de peso y no mejoran los parámetros productivos del pollo de engorde.

1.4.2. Hipótesis alternativa (Ha)

La inclusión de probióticos *Bacillus subtilis* en el agua de bebida influye positivamente sobre los parámetros productivos del pollo de engorde.

1.5. VARIABLES

1.5.1. Variable independiente

- uso de probiótico

1.5.2. Variable dependiente

- Parámetros productivos

CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO

2.1. POLLO BROILER (Origen del Rock-Cornish)

Según Valdiviezo (2012), la industria avícola depende de esta raza. Desde un punto de vista genético, la industria del pollo parrillero o "broiler" utiliza generalmente híbridos de tres vías producidos a partir del cruzamiento de estirpes mejoradas de razas pesadas. En el esquema clásico se emplea como madre un híbrido simple entre dos estirpes de la raza Plymouth Rock Blanca (White Rock) y como padre una estirpe de la raza Cornish Blanca que aporta velocidad de crecimiento y una adecuada conformación carnicera al producto comercial.

Los aportes de Romero (2017), expresan que la variedad Broiler es conocida con el nombre de "RockCornish", en relación a un cruce entre el pollo macho corno y la hembra Barred Rock, híbrido introducido en el Ecuador en los años 1930 y popularizado en la década de los años 1960. Se precisa que el cruce originario permanecía cubierto de problemas de baja fertilidad, desarrollo lento y era propenso a diversas enfermedades. No obstante, los actuales pollos Broiler son hoy diferentes de aquel híbrido Cornish x Rock.

En este contexto la guía agroalimentaria de Ministerio de Agroindustria de la provincia de Buenos Aires (2018), expone que el Rock-Cornish es una raza pesada, tienen cresta tipo garbanzo, ponen huevos de color marrón y su piel y patas son amarillas. Piernas cortas, pechuga ancha y musculosa. Se la utiliza como línea paterna en la generación del pollo parrillero.

De lo que antecede se considera que esta variedad de pollos es muy valorada por su excelente conversión alimento/carne, la que produce excelentes resultados económicos a sus productores. Además la industria avícola (2018) expone la evolución que ha existido con el consumo de carne avícola desde los

años 2012 al 2017 (ver Anexo 1), del mismo modo señala que el consumo percapita en Ecuador es de 35 kg/ persona (ver anexo 2).

1.1.1 Nutrientes que aporta la carne de pollo

Una de las características por la cual el consumo de carne de pollo es significativo es debido a que el tejido conectivo es relativamente pequeño lo que hace que sea una carne de fácil digestión. En la tabla 3 se muestra el contenido nutritivo de la carne de pollo (Islas, 2003).

La cantidad de nutrientes que aporta la carne de pollo es altamente significativo, pues contiene mucha proteína de alta calidad, vitaminas, potasio, calcio y fósforo, entre otros componentes y la cantidad de grasa es mínima comparada con otras carnes como la vacuna y porcina. Debido a estos valores es la carne preferida por las personas que cuidan su peso y aquellos que deben restringir su consumo en grasa. La carne de pollo forma parte de una dieta balanceada en la que existe una inmensa variedad de alimentos, necesarios para llevar una vida equilibrada y saludable (Friedman y Weil, 2010).

Tabla 1. Contenido nutritivo de la carne de pollo

Nutriente	Proporción total aportado por carne de pollo (%)
Proteína	6.3
Hierro	3.3
Vitamina A	1.0
Tiamina	1.2
Riboflavina	1.9
Niacina	10.1

Fuente: (Islas, 2003).

1.1.2 Morfología del tracto digestivo

Los aportes de Gutiérrez (2017), mencionan que en el intestino delgado se producen hormonas que se encuentran asociadas en la regulación de acciones tanto gástricas como intestinales. Además esta sección de intestino, realiza funciones tales como: recibir el jugo gástrico que contiene enzimas; absorber el alimento digerido para pasarlo al torrente circulatorio; estimular el recorrido del alimento no digerido hacia el recto y los ciegos.

El mismo autor continúa mencionando que la porción de intestino que corresponde a duodeno, es de digestión y absorción de nutrientes, las mismas que dependen también de las secreciones gástricas, pancreáticas y biliares. Sin embargo destaca que la porción de intestino delgado que absorbe mayoritariamente es la del denominado yeyuno. Mientras que en la sección del íleon, existe la producción de enzimas.

1.1.3 Parámetros productivos valorados en el pollo de engorde

Actualmente trabajan en la obtención de probióticos basados en cultivos de *Bacillus sp.* En donde se valoran como indicadores, los aspectos microbiológicos y morfométricos, así como también los hematológicos, fermentativos, inmunológicos y productivos (Milián y Bocourt, 2008).

Entre las variables productivas se encuentran la toma de valores de los siguientes datos:

1. Consumo de alimento y agua.
2. Ganancia semanal de Peso.
3. Índice de conversión Alimenticia.
4. Factor de eficiencia en la productividad
5. Peso al sacrificio (peso de la canal)
6. Crecimiento de vellosidades intestinales

Se considera que, los productores y sobre todo los grandes sistemas avícolas consignados a la producción de pollo de engorde se caracterizan por manejar altas densidades en búsqueda de un mayor rendimiento productivo de carne por área de confinamiento.

2.2. EFECTOS DE LOS ANTIBIOTICOS EN LA PRODUCCION ANIMAL

El descubrimiento de los antibióticos ha permitido salvar la vida de millones de personas. Sin embargo, su efectividad ha ido disminuyendo a la par que los microorganismos van desarrollando resistencia durante su aplicación en el crecimiento de animales de abasto. En este sentido, Fajardo-Zapata *et al.* (2011), exponen que los antibióticos se emplean como agentes antimicrobianos y promotores de crecimiento especialmente en cerdos y aves de corral. Además, mencionan que la propiedad de los antibióticos respecto a aumentar la ganancia de peso y eficiencia de conversión, ya se conoce desde los años cuarenta.

Por otro lado Pacheco (2012), comenta que del uso irracional de los antibióticos y su automedicación, se generan cambios en el ecosistema que intereactúan las bacterias, ocasionando una presión ecológica sobre los microorganismos para favorecer la selección de cepas resistentes

De allí Monroy, *et al.* (2015), estiman que existen dos factores principales que generan la resistencia a los antibióticos: los genes transferibles de resistencia y la presión selectiva sobre su uso. Entre los antibióticos más comúnmente utilizados y agregados en el alimento de los animales, destacan: las penicilinas, tetraciclinas, cefalosporinas, fluoroquinolonas, avoparcina y virginiamicina.

Pacheco (2012) detalla que a dosis bajas de antibióticos como la penicilina, los microorganismos expuestos son susceptibles a la resistencia del mismo, razón

por la que desde el descubrimiento de la penicilina se recomendó usarse con moderación para evitar la presencia de fallas terapéuticas.

En este sentido Fajardo-Zapata, (2011), ante el uso indiscriminado de antibióticos en la producción animal y con el fin de reducir su uso, se plantean nuevas alternativas como el uso de probióticos (microorganismos vivos que se agregan como suplemento a la dieta), prebióticos (ingredientes no digeribles de la dieta, que estimulan el crecimiento bacteriano en el colon) y simbióticos (son formulaciones que combinan probióticos con prebióticos que actúan sinérgicamente) los cuales representan una alternativa significativa y segura en la producción animal.

2.3. SIMBIÓTICOS

Los aportes de Gutiérrez (2017), definen como simbiótico a la combinación de prebióticos con probióticos. Es preciso exponer que este beneficia al huésped mediante el aumento de la sobrevivencia e implantación de los microorganismos vivos de los suplementos dietéticos en el sistema gastrointestinal, los cuales benefician al huésped mediante el aumento de la sobrevivencia e implantación de los microorganismos vivos de los suplementos dietéticos en el sistema gastrointestinal.

Este mismo autor expone que aún está poco estudiada esta combinación, que podría aumentar la supervivencia de las bacterias en su fase de tránsito intestinal y por tanto, aumentaría su potencialidad para desarrollar su función en el colon. Se ha descrito un efecto sinérgico entre ambos, es decir, los prebióticos pueden estimular el crecimiento de cepas específicas y por tanto contribuir a la instalación de una microflora bacteriana específica con efectos beneficiosos para la salud. Una condición para que ocurran tales efectos, es el uso de las bacterias ácido lácticas que tengan habilidad para metabolizar simultáneamente los prebióticos suplementarios.

2.4. DEFINICION DE PROBIOTICO

De acuerdo con Olveira y González-Molero (2007), la definición inicial de los probióticos se refería a sustancias secretadas por los microorganismos que estimulan el crecimiento de otros. No obstante, mencionan que en la actualidad los probióticos hacen referencia a un producto que contiene cepas de microorganismos viables y que produce efectos beneficiosos en un huésped. En este sentido, se considera que los probióticos son un suplemento alimenticio de microorganismos vivos, que benefician al hospedero en su microbiota intestinal.

Aunque Gutiérrez (2017), acepta el concepto de reemplazar las bacterias patógenas del intestino con bacterias benéficas, aún persisten dudas sobre la eficacia de los probióticos disponibles, muchas de ellas derivadas de experiencias sin éxito de los primeros productos probióticos, algunos de los cuales no dieron los resultados esperados.

Medina, et al. (2017), afirman que la palabra "probiótico" es utilizada para describir el organismo que actúa en el balance de la microflora intestinal. Además, aclara que en recientes estudios se lo ha calificado como un complemento alimenticio. En este sentido, los alimentos que contienen estos probióticos se consideran eficaces.

2.4.1. Acción de los probióticos en el tracto gastrointestinal (TGL)

Los seres vivos conviven en armonía con un micro-ecosistema de microorganismos presentes en la superficie de piel y mucosas de los tractos digestivo, respiratorio y genitourinario, comúnmente llamada flora normal.

En este sentido, Milián y Bocourt (2008), exponen que la inmersión de un probiótico es un evento natural que beneficia las interacciones naturales y complejas de la microbiota intestinal. Respecto a los efectos positivos no sólo serán a nivel del TGI, sino que se reflejarán también en resultados zootécnicos, como son la ganancia de peso vivo y la conversión alimentaria.

Estos investigadores expresan que los probióticos, se agregan en la alimentación como aditivos y que generalmente se encaminan a favorecer la microbiota intestinal, descomponer sustancias alimenticias, mantener la integridad de la mucosa intestinal, producción de vitaminas y ácidos grasos, en reducción del nivel de colesterol y triglicéridos en sangre, entre otros. Lo que genera una mejor estabilidad y efectos fisiológicos en el organismo del que los consume.

2.4.2. Microorganismos empleados como probióticos

Para que los componentes básicos tengan una conversión eficiente del alimento, se debe tener una absorción favorable de los nutrientes. Esto es muy significativo en la producción así como en el bienestar de los pollos.

Al respecto, Medina, et al. (2017), expresan que entre los organismos más utilizados en investigaciones está el *Bacillus subtilis*. Esto según sus estudios precisa que es por la acción que realizan las enzimas hidrofílicas, que actúan como fuentes de carbono y productoras de antibióticos, sobre polisacáridos, ácidos nucleicos y lípidos.

Para Gutierrez (2017), muchos microorganismos como *B. cereus*, *B. licheniformis*, *B. subtilis*, *Enterococcus faecium*, *Lactobacillus faciminis* y *Saccharomyces cerevisiae* han sido autorizados como nuevos aditivos en la alimentación. Todas estas cepas han demostrado efectos positivos en diferentes hospederos, sobre todo en el incremento de los parámetros productivos y en una mejor condición sanitaria y salud intestinal.

2.4.3. Clasificación taxonómica del (*Bacillus subtilis*)

La clasificación taxonómica de la bacteria *B. subtilis* es la siguiente:

- Dominio: **Bacteria**
- Filo: ***Firmicutes***
- Clase: ***Bacilli***
- Orden: **Bacillales**
- Familia: ***Bacillaceae***
- Género: ***Bacillus***
- Especie: ***Bacillus subtilis***

2.4.4. Uso del *B. subtilis*, como probiótico en la avicultura

. Según Gutiérrez (2017), las bacterias del género *Bacillus subtilis* microbiológicamente son consideradas como gram positivas en forma de bastoncillo, agrupadas en cadenas, mótils y flagelación peritrica, formadoras de endosporas, anaerobias estrictas o facultativas, no son adherentes, y son productoras de sustancias antimicrobianas y enzimas hidrolasas, entre las especies de mayor importancia como probióticos pertenecientes a este género están *B. cereus*, *B. licheniformis*, *B. subtilis* y *B. natto*.

Además, expone que algunos cultivos del género *Bacillus* y sus endosporas, están recibiendo marcada atención por el efecto probiótico que brindan sobre el balance de la microflora intestinal, la mejora en la digestión y la absorción de los alimentos, la mayor eficacia en la conversión alimenticia y los mejores rendimientos productivos, principalmente en aves. También indica que el probiótico más utilizado es el *B. subtilis*, a pesar de estar considerados como microorganismo transitorio del TGI.

Según Medina et al. (2017), los beneficios que tiene el *B. subtilis* dentro del intestino de los animales son: mejorar cuadros entéricos; demostrar que no causan toxicidad; presentan acción bactericida y fungicida. Asimismo, señalaron

que al ser ingerido por pollos, este permite incrementa la población de *Lactobacillus* sp.

2.4.5. Dosificaciones adecuadas, del *B. subtilis*, como probiótico

Los aportes de estudios realizados por Medina et al. (2017), especifican que el *Bacillus subtilis* es una especie considerada con evolución *Qualified Presumption of Safety (QPS)*, esto por la sensibilidad que presenta ante antibióticos así como la ausencia toxigénico. En este sentido, se lo considera un aditivo eficaz para pollos de engorde en aportando en cantidades mínimas de 1×10^7 , y máximas de 5×10^7 UFC/kg en dieta completa, además garantiza seguridad para el consumidor y el medio ambiente.

Sin embargo, Milián, et al. (2008), exponen que el efecto benéfico de los *Bacillus* como probióticos se produce cuando se ingieren en cantidades adecuadas (1×10^9 UFC/kg de concentrado), modificando el ecosistema del intestino y generando un equilibrio que se manifiesta en un buen estado de salud. La competencia por los nutrientes y por los sitios de adherencia entre probióticos y patógenos que se ingieren por accidente, impide la colonización de agentes patógenos y refuerzan los mecanismos de defensa.

Para establecer que adición de dilución del probiótico (*bacillus subtilis*), en la dieta. La vía de administración pudo determinar la capacidad de colonización intestinal por las bacterias presentes en el producto empleado y, de esa manera, se observó la necesidad sobre el éxito del tratamiento. En este sentido se debe destacar que estudios como los de Blajmana et al. (2015), quien establece que las vías de administración de probióticos más utilizadas en pollos son: la inclusión en el agua de bebida, la incorporación en los comederos o el agregado a las raciones, y, finalmente, la aplicación en dosis individuales.

CAPÍTULO III: DISEÑO METODOLÓGICO

3.1 Localización y duración de la investigación

3.1.1 Espacial

La parte experimental de este proyecto de investigación se desarrolló en la finca experimental de la Comuna Los Bajos de Montecristi, de la facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Laica “Eloy Alfaro” de Manabí, Manta. Con el uso también de los laboratorios de la sede-matriz, ubicada en la ciudad de Manta (Ecuador).

3.1.2 Temporal (período)

La ejecución experimental del proyecto se desarrolló entre los meses de septiembre a diciembre del año 2018.

3.2 Condiciones meteorológicas

3.2.1 Relieve

De acuerdo a como lo establece el Gobierno Autónomo Descentralizado Municipal del Cantón Montecristí (PDyOT, 2016), este cantón presenta dos paisajes, uno conexas con relieves montañosos, situado entre 200 y 600 m.s.n.m., formados con materiales volcánicos y sedimentarios. Con pendientes escarpadas, vegetación arbórea dominante, sus partes más altas absorben la humedad atmosférica proveniente del Pacífico. El resto del cantón posee un paisaje relativamente bajo, con diversos relieves y formaciones rocosas.

El cantón limita al norte: con el cantón Manta y Jaramijó, al oeste con el cantón Manta y el Océano Pacífico, al este con el cantón Portoviejo y Jipijapa, y al sur con el cantón Jipijapa y el Océano Pacífico (PDyOT, 2016).

3.2.2 Hidrografía

Se debe precisar que el sistema hidrográfico de este cantón se compone de los ríos: Burro, Camarones, Carrizal, río Hondo, Jaramijó, Manta, Membrillal, Salado, Sancán, Tierra Colorada, Vainilla, río de Cañas y río de la Naranja, drenajes menores, quebradas y esteros.

Es importante destacar los aportes del Plan de Desarrollo y Ordenamiento Territorial del Cantón, que estipula las condiciones climáticas que se desarrollan al interior de una parte de las cuencas hidrográficas de los ríos: Cañas, Manta, Bravo, San Mateo, Jaramijó y Portoviejo. Estas solo se ven afectadas en inundaciones por desbordamientos o fluviales, que se originan solo cuando se presenta el fenómeno de El Niño o fenómenos meteorológicos extremos (PDyOT, 2016).

3.2.3 Topografía

Respecto a la topografía del cantón Centeno (2010), expresa que hasta forma lomas y cerros en diversos lugares con pendientes de entre el 5% y 10%. De manera frecuente con capas de arcilla sobre la arenisca. En algunos lugares se ha desarrollado suelo profundo de arcilla negra y pesada. Este suelo presenta pocas grietas durante la época seca, y después de los 40 cm de profundidad tienen mayor nivel de arena. Existen un conjunto de suelos derivados de sedimentos marinos recientes.

3.2.4 Clima

La temperatura media anual del aire en la estación Manta-Aeropuerto, varía entre 23,7 y 26,2°C con un promedio de 25,1°C. El mes de agosto presenta el menor valor de temperatura y los más altos valores en los meses de enero y febrero, (época de mayor lluvia).

Según datos del Plan de Desarrollo y ordenamiento Territorial (PDyOT, 2016), el clima del cantón Montecristi se clasifica como una región bioclimática subdesértico tropical; en toda la provincia de Manabí esta región bioclimática

cubre Bahía de Caráquez, Charapotó, Portoviejo, Montecristi, Julcuy y Valle del Ayampe alto.

3.2.5 Precipitación.

De acuerdo con la información proporcionada por el INAMHI al Gobierno autónomo Descentralizado de este cantón y expresado en el PDyOT (2016), Montecristi presenta una precipitación media anual entre 375 y 440 mm.

3.3 DISEÑO EXPERIMENTAL

3.3.1 Factor en estudio (Variable independiente)

Uso del probiótico *B. subtilis* (diluido en el agua de bebida).

Niveles del factor (ver tabla 2)

Tabla 2. Descripción de variable Independiente.

VARIABLE INDEPENDIENTE	DIMENSIONES	NIVELES DEL PROBIOTICO
<i>X₁. Aplicación del probiótico, con cepas de B. subtilis.</i>	Diluciones Suministrar en agua de bebida/día.	Probiótico diluido al $1,2 \times 10^3$ UFC
		Probiótico diluido al $1,6 \times 10^5$ UFC
		Probiótico diluido al 2×10^7 UFC

3.3.2 Descripción de la variable dependiente

Parámetros productivos evaluados (ver tabla 3)

Tabla 3. Descripción de variable Independiente.

<i>VARIABLE DEPENDIENTE</i>	<i>DIMENSIONES</i>	<i>INDICADOR</i>
<i>Y₁. Efecto del probiótico, con cepas de Bacillus subtilis, sobre el ciclo de vida del pollo de engorde.</i>	Parámetros productivos.	Consumo de alimento (semanal/ave/gramos).
		Consumo de agua (semanal/ave/ml).
		Ganancia de peso (semanal/ave/gramos).
		Conversión alimenticia.
		Peso de la canal.
		Índice de conversión alimenticia ICA
		Factor de eficiencia Americana FEA.

3.3.3 Diseño Experimental

El experimento se condujo bajo el esquema del diseño completamente al azar (DCA) con un testigo. Cada variante se replicó tres veces.

3.3.4 Número de Tratamientos y Repeticiones

Los cuatro tratamientos que se estudiaron, corresponden a los tres niveles de dilución del probiótico más un testigo (Tabla 4).

Tabla 4. Tratamientos en el estudio Influencia de las diluciones del probiótico *Bacillus subtilis* sobre los parámetros productivos del pollo de engorde

TRATAMIENTO	CÓDIGO	DESCRIPCIÓN	UNIDADES DE ESTUDIO
1	T	Testigo (aplicación de vacunas)	10 aves por tratamiento.
2	D1	1,2X10 ³ UFC	
3	D2	1,6X10 ⁵ UFC	
4	D3	2X10 ⁷ UFC	

3.4 Análisis Estadísticos:

3.4.1 Esquema Análisis de Varianza

Se realizó un análisis de varianza simple (ADEVA) para los datos de cada una de las variables respuestas, se empleó el programa InfoStat para el procesamiento de la información.

Las fuentes de variación que mostraron diferencias estadísticas se categorizaron mediante la prueba de tukey al 0,05 de probabilidades de error. Las variables que no presentaron normalidad fueron corregidas por sesgos en la distribución de errores de modo que su distribución se acerque lo más posible a la distribución normal.

3.4.2 Características de la unidad experimental (Población).

La unidad experimental estuvo conformada por 10 unidades de pollos Cobb 500. Que hacen un total de 120 pollos en todo el ensayo.

3.5 MANEJO DEL EXPERIMENTO

3.5.1 Descripción del experimento

❖ Preparación del probiótico y sus respectivas diluciones en estudio.

Se utilizarán cepas de *Bacillus subtilis*, nativa aislada por la ESPAM y diluidas en un medio acuoso. La preparación del medio acuoso es de la siguiente forma:

1. Se toman 2 gr de Potassium Chloridea en 2500 ml de agua destilada.
2. Después se mezcla homogéneamente.
3. Se envían al autoclave.
4. Luego se realiza la inoculación en sus tres diferentes concentraciones, una vez que el medio acuoso, este frío.

La inoculación fue de la siguiente forma:

- ✓ Se aplicaron 3 micropipetas de 1000 μ l, diluidas en los 2500ml antes mencionados. Para obtener la concentración de $1,2 \times 10^3$ UFC.
- ✓ Se aplicaron 4 micropipetas de 1000 μ l, diluidas en los 2500ml antes mencionados. Para obtener la concentración de $1,6 \times 10^5$ UFC.
- ✓ Se aplicaron 5 micropipetas de 1000 μ l, diluidas en los 2500ml antes mencionados. Para obtener la concentración de 2×10^7 UFC.

Las diluciones están debidamente preparadas en su respectivo medio acuoso, y la aplicación de esta concentración será, en el agua de bebida del pollo de engorde a dosis de 1 ml por cada litro de agua a consumir por tratamiento.

3.5.2 Distribución de los tratamientos

Se puede visualizar en la tabla 5, el croquis de manejo del experimento.

Tabla 5. Distribución de los tratamientos

D3	T	D3	T	D2	D1
Puerta		Pasillo			
D2	D1	T	D2	D3	D1

❖ **Crianza del pollo broiler.**

Durante la crianza, se realizará el mismo manejo para cada tratamiento, en cuanto a la alimentación y bebida, la sanidad dentro y fuera del área de camada. Los valores de consumo, peso y temperaturas, se tomarán diariamente (ver anexo 10).

A diferencia del cronograma de vacunación, solo se aplicará al grupo testigo, mas no a las tres diferentes diluciones. En reemplazo de esto, recibirán probiótico diariamente en el agua de bebida. La tabla 6 muestra el manejo en detalle del proceso de manejo de alimentación y cronograma de vacunación.

Tabla 6. Manejo de alimentación y cronograma de vacunación

MANEJO	DETALLE																		
	<p>Se utilizará alimento balanceado para pollos de engorde, esto por la garantía en dietas y nutrientes para pollos de engorde que han presentado en diversos estudios durante las etapas de desarrollo del pollo, hasta la etapa de su acabado final.</p> <p>El mismo que posee las siguientes especificaciones (ver tabla 6.1.) técnicas de su composición:</p>																		
Alimentación	<p>Tabla 6.1. Composición de alimento proporcionado en el estudio.</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>COMPOSICIÓN %</th> <th>INICIAL</th> <th>ENGORDE</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Proteína (Min)</td> <td>21</td> <td>19</td> </tr> <tr> <td>Humedad(Max)</td> <td>12</td> <td>12</td> </tr> <tr> <td>Grasa</td> <td>10</td> <td>10</td> </tr> <tr> <td>Fibra (Max)</td> <td>5</td> <td>5</td> </tr> <tr> <td>Ceniza (Max)</td> <td>7</td> <td>7</td> </tr> </tbody> </table>	COMPOSICIÓN %	INICIAL	ENGORDE	Proteína (Min)	21	19	Humedad(Max)	12	12	Grasa	10	10	Fibra (Max)	5	5	Ceniza (Max)	7	7
	COMPOSICIÓN %	INICIAL	ENGORDE																
	Proteína (Min)	21	19																
	Humedad(Max)	12	12																
	Grasa	10	10																
	Fibra (Max)	5	5																
Ceniza (Max)	7	7																	
	<p>Ficha técnica</p> <p>Con una ganancia de peso aproximado desde la semana 1 de: 166 gramos; hasta la semana 6 de 2743 gramos. Y conversión final de 1,65.</p>																		
Vacunación	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Vitamina para el día de recibimiento (ver anexo, el cual contiene electrolitos y es suministrada en el agua de bebida. ➤ Newcastle y Gumboro: (ambas son vacunas liofilizadas de virus vivo) Vía: Ocular: Newcastle_ Oral: Gumboro. Presentación comercial juntas o por separadas. Aplicada a los 8 días de edad del pollo de engorde. ➤ Newcastle + Bronquitis: (vacuna liofilizada de virus vivo) Vía: Ocular. Presentación comercial juntas o por separadas. Aplicada a los 15 días de edad del pollo de engorde. ➤ Newcastle: (vacuna liofilizada de virus vivo) Vía: Ocular. Presentación comercial juntas o por separadas. Aplicada a los 21 días de edad del pollo de engorde. 																		

3.1.1. Materiales y equipos de medidas

Balanza: Instrumento para pesar mediante la comparación del objeto que se quiere pesar con otro de peso conocido; en su forma más sencilla consiste en dos platos que cuelgan de una barra horizontal que está sujeta en su centro y permanece nivelada cuando alcanza el equilibrio; el objeto que se desea pesar se coloca en uno de los platos, y en el otro se van colocando pesas hasta nivelar horizontalmente la barra.

Termómetro Ambiental: Tubo de vidrio sellado que contiene mercurio, cuyo volumen cambia con la temperatura de manera uniforme.

Microscopio: instrumento de observación, para materiales no visibles a simple vista. Utilizado para la observación de tejidos epiteliales del intestino delgado “vellosidades intestinales”.

Tabla De Registro Diario: en donde se especifica y se toman valores diarios de: consumo de agua y alimento, temperatura, humedad relativa, peso.

3.1.2. Técnicas de investigación

Se realizará por medio de:

- **Método Experimental:** corresponde a la parte práctica de la investigación.
- **Observación directa:** corresponde a la visualización de la investigación observaron, respecto al efecto de la administración dietética de diluciones del probiótico *bacillus subtilis* en el agua de bebida.
- **Análisis de datos:** El efecto del uso de probiótico, se determinará a través de un análisis de varianza, como modelo aditivo lineal que permite observar una medida de cuanto se desvía cada una de las observaciones hechas sobre la media de las observaciones.

3.6 DATOS ANALIZADOS Y METODOS DE EVALUACION.

❖ Consumo de alimento y agua (semanal/ave/gramos):

Se obtiene al realizar la sumatoria de lo que consumieron las aves en la semana y se divide entre el saldo de aves de la semana.

$$(\text{Alimento ofrecido} - \text{Alimento sobrante}) = \text{consumo}$$

Sumatoria de consumos de los 7 días/la cantidad de aves por tratamiento.

❖ Ganancia de peso (semanal/ave/gramos):

Se calcula por la diferencia de peso corporal de los animales en las semanas consecutivas.

❖ Índice de Conversión Alimenticia (ICA):

Valor en kilogramos de alimento necesario de un ave para producir un kilogramo de carne. El Parámetro que mide la relación entre el alimento consumido y el crecimiento del animal en determinado tiempo. Esta se determina mediante la fórmula de Índice de Conversión (ICA).

$$\text{ICA} = \text{Consumo/Peso vivo}$$

❖ Factor de Eficiencia Americana (FEA):

Es el resultado de la interacción que existe entre el potencial genético del pollo, la alimentación que recibe y el manejo al que se somete durante su vida útil.

$$\text{FEA} = \text{Peso promedio por ave/ICA}$$

❖ Peso de la canal

Este valor se toma una vez realizado el sacrificio de los pollos de engorde en donde se tomará netamente el valor de la canal del pollo.

❖ **Mortalidad:**

Índice valorado según el conteo de animales vivos y muertos.

❖ **Estudios de laboratorio:**

Cambios generados en las vellosidades del intestino delgado.- Como curiosidad a los cambios generados internamente dentro del organismo de los pollos, se decidió a realizar unas muestras intestinales para conocer a través de características comparativas las diferencias existentes en los tratamientos estudiados, tomando muestras de vellosidades del intestino delgado en sus porciones de duodeno y yeyuno.

De los cuatros tratamientos, se eligió una unidad de cada grupo, el día 21 y otra el día 42 (edad de vida del pollo). Esto por sorteo, el ave retirada sufrió eutanasia y, posteriormente, se le practicó una necropsia para la toma de las muestras de intestino, para la medición de la altura de las vellosidades intestinales.

Para la muestra del duodeno se realizó un corte, justo en la porción media del ansa duodenal, corte aproximado de 1 cm. Mientras que para el segundo corte, la muestra del yeyuno, se midió con una regla desde el primer corte, hasta después de 8 cm realizar el segundo corte, así mismo se toma 1cm de la porción del intestino. Ambas muestras elaboradas con sus respectivos cuidados y en condiciones asépticas. En total se realizaron cuatro cortes, los primeros dos cortes al día 21 y del mismo modo se realizaron cortes al día 42 (los días son con referencia a la edad de vida de los pollos de engorde).

Cumpliendo su respectivo sacrificio, para tomar 1 cm de cada porción. Las que se reservarán en formol, para luego inmovilizar la muestras con parafina, lo que facilitará el corte realizado por el micrótopo y la posterior observación en el microscopio. Es importante precisar que la integridad intestinal debe ser óptima, desde el nacimiento hasta el final del ciclo productivo, esta es esencial para

obtener el máximo potencial genético de crecimiento y utilización del alimento de las aves.

Análisis patológico (presencia de *Salmonella* y *Escherichia coli*).

El 20 de agosto del 2018 se sacrificaron 4 pollos a los 21 días de edad, siendo estos trasladados al laboratorio de la facultad. Donde se extrajo del intestino delgado, y varias porciones. Para la obtención de resultados patológicos (ver resultados estudio patológico).

Previa a la preparación del gel para el estudio bacteriológico, para observar existencia de *Salmonella* y *Escherichia coli*, dentro de los tratamientos en estudio, se realizó el caldo que contenía las muestras de intestinos, el mismo que se inoculara en su respectivo gel previamente obtenido.

La preparación del caldo con muestras intestinales se procedió de la siguiente forma:

- Se tomaron 4 pequeños matraz cada uno con 40ml de agua destilada, mismos que serán medidos con ayuda de una probeta, y llenados respectivamente. un matraz por cada tratamiento en estudio.
- A este matraz con agua destilada se le añadió de 3 a 4 cortes en porciones distintas del intestino delgado y agitado para obtener una homogenización de la muestra.
- Este caldo intestinal fue inoculado dentro del gel bacteriológico y esparcido por todo el contenido de la caja Petri, luego de esto se procedió a dejar las muestras en incubación por 48 horas (ver resultados estudio patológico).

4. CAPITULO IV: RESULTADOS Y DISCUSION

4.1 Consumo de agua semanal

En tabla 7. Se presenta el análisis de la varianza que existe en este variable consumo de agua, esto como respuesta al estudio de seis semanas de duración del ensayo.

Tabla 7. Promedio entre los tratamientos, de la variable consumo agua (ml / ave /semana).

Tratamiento	SEMANA					
	I	II	III	IV	V	VI
D1	54,08	117,43	274,53	438,62	505,74	668,04
D2	57,00	177,14	276,43	437,43	523,44	686,08
D3	59,11	176,91	281,90	435,74	520,53	684,92
T	54,56	174,13	287,51	446,67	534,24	712,12
CV %	6,66	3,36	4,00	3,98	5,48	8,02
p-valor	0,38	0,62	0,52	0,89	0,69	0,81
Tukey	-----	-----	-----	-----	-----	-----
Pro. General	56,19	161,40	280,09	439,62	520,99	687,79

Como se puede observar en sus resultados, no existe diferencia significativa demarcada en la prueba de análisis estadística de Tukey. Pero sin embargo en comparaciones numéricas se observa en la tabla 7.1. Que progresivamente a mayor cantidad de probiótico existió un aumento considerable al consumo de agua, siendo D3 (2159,11 ml) de agua consumida, no obstante éste valor considerado como el más alto entre los tratamientos con probióticos, no supero el valor de consumo de agua que presento el tratamiento “testigo” T (2209,23 ml).

Tabla 7.1. Sumatoria general de los promedios que existen en la variable consumo agua (ml / ave /semana).

Tratamiento	Sumatoria general
D1	2058,44
D2	2157,52
D3	2159,11
T	2209,23

4.2 Consumo de alimento semanal

El resultado de la variable consumo de alimento semanal se presentan en la tabla 8. Mismas que se obtuvieron de las Medias estadísticas de la prueba de Tukey, como resultado de los datos recolectados durante las seis semanas de vida de los pollos Broiler en estudio.

En esta tabla se puede apreciar que solo en la primera semana hubo diferencia estadística en esta variable, categóricamente se encontró que los tratamientos D2 y D3 comparten la primera categoría, sin embargo el D3 alcanzó el mayor promedio de consumo de alimento (26,33 g/ave), en comparación con los tratamientos que se ubicaron en segunda categoría obteniendo un promedio en consumo entre D1 (24,07 g/ave) y T (24,15 g/ave).

Tabla 8. Promedio entre los tratamientos, de la variable consumo alimento (g/ ave /semana).

Tratamiento	SEMANA					
	I	II	III	IV	V	VI
D1	24,07 B	54,62	98,74	135,43	150,09	180,01
D2	25,00AB	54,36	97,19	135,86	154,58	181,37
D3	26,33 A	55,19	98,00	137,21	155,94	181,01
T	24,15 B	54,65	100,09	137,89	158,94	184,76
CV %	3,08	2,82	2,15	3,5	5,98	5,35
p-valor	0,02**	0,92	0,44	0,91	0,71	0,94
Tukey	2,00	-----	-----	-----	-----	-----
Pro. General	24,89	54,71	98,51	136,60	154,89	181,79

El proceso durante las otras cinco semanas faltantes no presentó diferencias estadísticas, esto concuerda con la investigación elaborada por Gutiérrez (2017), en la que evaluó el efecto simbiótico a base de *Sacchromyces cerevisiae* y *Bacillus subtilis* sobre parámetros zootécnicos en pollos Cobb 500, y determinó que no existe diferencias significativas entre el grupo control y los grupos experimentales dentro de la variable consumo de alimento.

Sin embargo al notar diferencias en el ámbito matemático los tratamientos con el pasar de sus semanas presentaron un consumo aproximado expresado en la tabla 8.1. Donde se visualiza que T presenta el consumo de alimento más elevado, con un promedio general por semana de consumo de (110,08 g/semana). Mientras que los otros tres niveles de probiótico actúan en proceso de escala ascendente siendo D1 (107,16 g/semana) el de menor consumo y D3 el que presenta un consumo (108,95 g/semana) mayoritario de los tratamientos con aplicación de probiótico.

Tabla 8.1. Sumatoria y promedio general por tratamientos, de la variable consumo alimento (g/ ave /vida del pollo).

Tratamiento	Sumatoria General	Promedio general (semana)
D1	642,96	107,16
D2	648,36	108,06
D3	653,68	108,95
T	660,48	110,08

4.3 Ganancia de peso semanal

En la tabla 9. Se presentan los resultados con igual procedimiento a las variables antes mencionadas, en el cual muestra las medias estadísticas del ciclo de vida del pollo, la misma que nuevamente no se observó diferencias estadísticas. Dato que reafirma Barros (2018) en su estudio, donde muestra que porcentajes de 0,01% y 0,02% de probiótico comercial, no obtuvieron significancia en la variable ganancia de peso.

Tabla 9. Promedio entre los tratamientos, de la variable ganancia de peso (g/ ave /semana).

Tratamiento	SEMANA					
	I	II	III	IV	V	VI
D1	90,34	277,14	709,52	1218,81	1733,57	2421,19
D2	89,48	296,90	713,81	1238,09	1839,76	2590,48
D3	89,43	292,38	710,72	1233,57	1834,05	2543,57
T	88,48	290,00	711,43	1237,62	1832,86	2584,29
CV %	3,29	3,95	3,21	4,67	4,50	4,71
p-valor	0,91	0,25	1,00	0,97	0,38	0,34
Tukey	—	—	—	—	—	—
Pro. General	89,43	289,11	711,37	1232,02	1810,06	2534,88

Al observar los datos matemáticos y establecer una relación entre sus resultados se observa que el Tratamiento D2 presenta durante el desarrollo del experimento los valores más altos de esta variable ubicándolo categóricamente en primer puesto, e incluso logró superar en pequeñas cantidades a T o tratamiento testigo. Continuando a la lista forma descendente le sigue el D3 Y T. y finalmente en último puesto D1.

Medina *et al.* (2017) destaca que en dietas basales de probióticos con *Bacillus subtilis* de 2, 3 Y 4 x 10¹⁰ UFC/kg, sin antibióticos, suplementados, dieron como resultado el progreso o mejora referente a la conversión alimenticia y ganancia de peso en machos Arbor Acres.. Del mismo modo hace referencia en los resultados de Barros (2010) que algunos autores manifiestan que en una concentración de 10¹⁰ UFC/g de *Bacillus subtilis* C-3102 como probiótico, es un sustituto eficiente de los antibióticos.

En la ganancia de peso la estimación productiva (ver tabla 9.1) de los tratamientos permitió realizar un análisis estadístico de tukey y un análisis de varianza (ADEVA) para medir los cambios ocurridos con el pasar del tiempo.

Tabla 9.1. Ejemplo de datos obtenidos del Peso Promedio Semana 1.

Código	Peso Promedio Semanal (PPS)			
	sumatoria peso	PPS x R	PPS xT	
T1R1	623	89	90,24	T1
T1R2	634	90,57		
T1R3	638	91,14		
T2R1	604	86,29	89,48	T2
T2R2	634	90,57		
T2R3	641	91,57		
T3R1	628	89,71	89,43	T3
T3R2	597	85,29		
T3R3	653	93,29		
T0R1	636	90,86	88,48	T0
T0R2	595	85,00		
T0R3	627	89,57		

Fuente: elaboración propia

Legenda: PPS = Peso Promedio Semanal;

PPS x R= Peso Promedio Semanal x Repetición;

PPS x T = Peso Promedio Semanal x Tratamiento.

4.4 Índice de Conversión Alimenticia semanal (ICA)

En los resultados presenciados en la **tabla 9.2**. Se visualizan las medias obtenidas del análisis estadístico de Tukey que corresponden a la variable Índice de conversión alimenticia. Durante la cual se observa que en la semana 2 existe una diferencia significativa (p -valor $< 0,05$), donde en categorías establece que D2 es la que presenta un mayor índice de conversión, a continuación le sigue los parámetros de D3 y finalmente en menor rango D1 Y T, lo mismo ocurre en cuanto

a datos numéricos en las semanas 1, 3, 4, 5 y 6, a pesar de ya no existir diferencias estadísticas.

Tabla 9.2 Promedio entre los tratamientos, de la variable ICA (g/ ave /semana).

Tratamiento	SEMANA					
	I	II	III	IV	V	VI
D1	0,267	0,198 B	0,139	0,111	0,087	0,075
D2	0,293	0,183 A	0,136	0,110	0,084	0,070
D3	0,293	0,189AB	0,138	0,111	0,085	0,071
T	0,273	0,198 B	0,14	0,112	0,087	0,072
CV %	6,48	2,7	3,09	5,27	4,60	8,11
p-valor	0,24	0,04**	0,74	0,99	0,84	8,82
Tukey	-----	0,01	-----	-----	-----	-----
Pro. General	0,28	0,19	0,14	0,11	0,09	0,07

Cabe recalcar que se establece al tratamiento que más convierte, por su valor mínimo en resultados. Razón por la que comparo, que no se le atribuye el rango de más productividad al grupo que consume más, si no al grupo que mantiene una relación entre menos consumo, más peso, esto es igual, a una mejor conversión alimenticia. Datos a visualizar en los graficas 1, 2 y 3.

Grafico 1. Medias de los tratamientos de la Variable ICA (g/ ave) durante la semana 5.

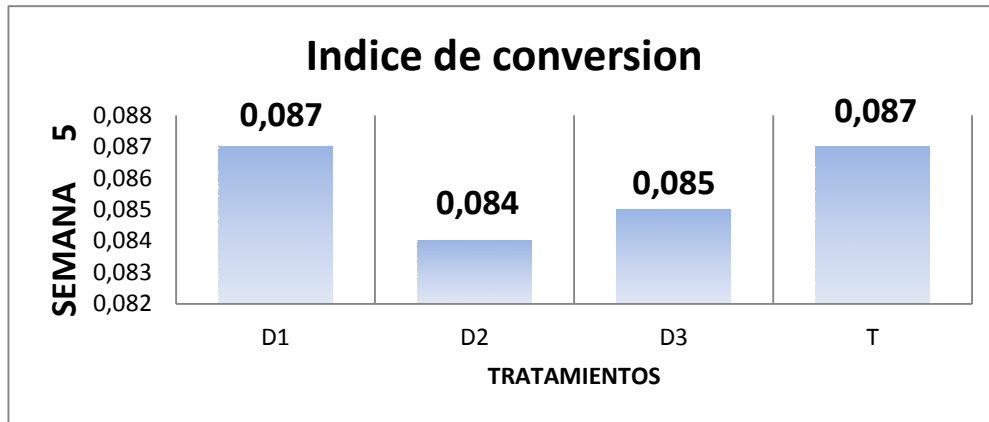


Grafico 2. Variable consumo alimento (g/ ave) durante la semana 5 (medias estadísticas).

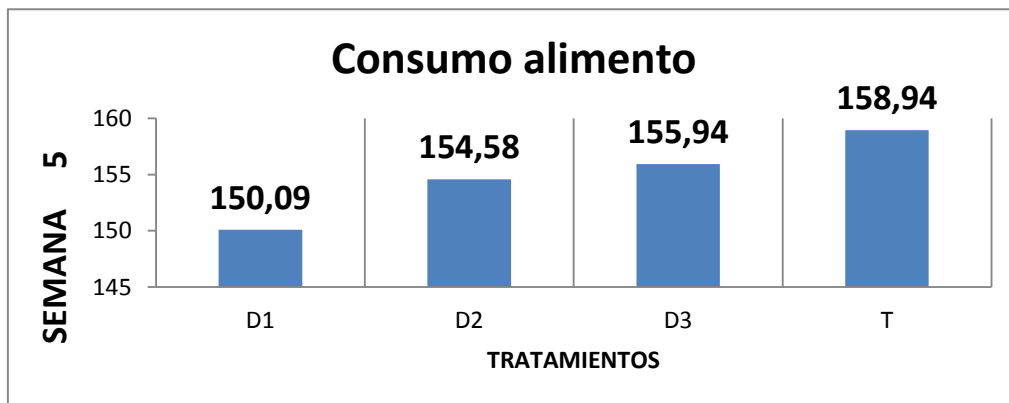
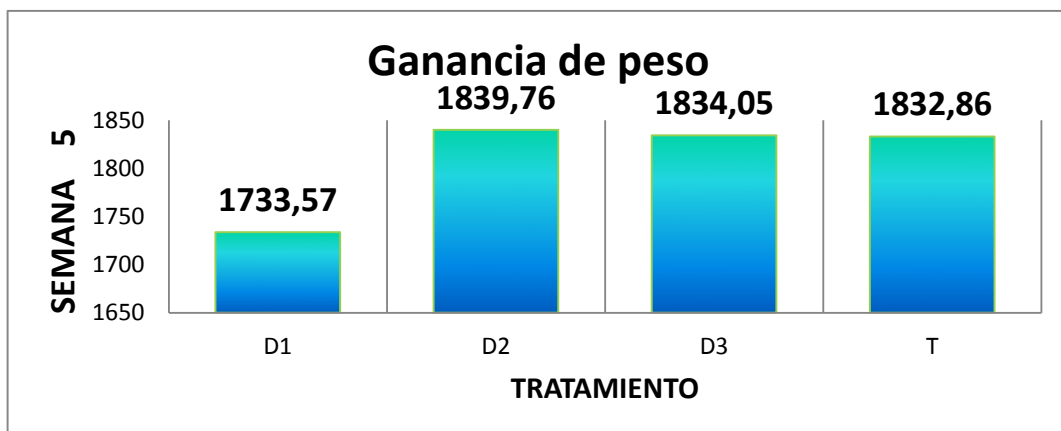


Grafico 3. Variable Ganancia de peso (g/ ave) durante la semana 5 (medias estadísticas).



4.5 Factor de Eficiencia Americana (FEA)

Al evaluar el Factor de Eficiencia Americana (FEA), se obtuvieron los mejores resultados matemáticos, más no estadísticos, para el tratamiento D2. Estos resultados fueron favorables teniendo en cuenta que los rangos de este estudio el menor es de 304,8 y mayor de 37330,1. En donde el tratamiento D2 refleja los más altos valores. La tabla 10. Demuestra el factor de eficiencia Americana de todos los grupos según el análisis estadístico de Tukey, mientras que en la tabla 10. Se vuelven a confirmar los datos con el análisis de varianza (ver tabla 10.1).

Tabla 10. Promedio entre los tratamientos, de la variable FEA (g/ ave /semana).

Tratamiento	SEMANA					
	I	II	III	IV	V	VI
D1	338,5	1407,3	5098,7	10984,6	20076,7	32630,9
D2	304,8	1622,0	5243,6	11298,4	22001,0	37330,1
D3	305,5	1549,6	5158,1	11096,1	21587,3	35835,1
T	324,6	1539,7	5070,4	11157,5	21188,5	36279,3
CV %	8,87	6	6,08	9,14	7,37	12,19
p-valor	0,44	0,10	0,96	0,99	0,57	0,60
Tukey	—	—	—	—	—	—
Pro. General	318,34	1529,62	5141,38	11132,05	21189,59	35518,87

Tabla 10.1. Análisis de varianza de la variable FEA (g/ ave) semana 6.

ANÁLISIS DE VARIANZA						
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	26011612,1	3	8670537,3	0,39748	0,7627742	6,5913821
Dentro de los grupos	87252963,19	4	21813240,8			
Total	113264575,3	7				

4.6 Peso al sacrificio de canal y vísceras

El resultado de los valores de esta tabla se tomaron solamente en la semana de salida de los pollos, donde se realizó el sacrificio respectivo y siguiente a esto se procedió a tomar solo el peso de la canal de los pollos en sacrificio. Considerando que la canal, se trata únicamente de todo lo que globaliza la parte muscular comestible, es decir el cuerpo del animal sin vísceras ni plumaje.

Tabla 11. Comparación de peso final junto con peso de la canal y peso de vísceras (lb/ave).

Tratamiento	PESO SEMANA IV (lb)	PESO CANAL(lb)	PESO DE VISCERAS (lb)
D1	5,33	4,40 B	0,66 AB
D2	5,70	4,71 A	0,52 A
D3	5,60	4,67 A	0,81 B
T	5,68	4,55 AB	0,67 AB

El D2 según los análisis estadísticos realizado, este tratamiento es el primero categóricamente con respecto al menor peso en vísceras. Y también, está en primer lugar por presentar el valor más superior en cuanto al peso de canal (4,71 lb). Resultados contrarios a los presentados en Gutiérrez (2017) el cual no evidencio diferencias significativas entre el grupo control y el experimental, en la variable peso de canal.

En cuanto a rendimiento de canal se puede observar en la tabla 11 la cual describe que el T2 es el tratamiento con mayor rendimiento de carne con (4,71libras) seguido de T3 con (4,67 libras); T0 con (4,55 libras) y T1 con 4,4 libras, por lo tanto; se demuestra que la aplicación probiótico bacillus subtilis sobre los parámetros productivos del pollo de engorde en la dieta, a través del consumo de agua, ayuda a una mayor producción de carne en las aves del experimento, esto concuerda con Arévalo (2016), quien demostró una mejora en el rendimiento de la canal con el uso de microorganismos de montaña como probióticos naturales líquidos y sólidos en pollos de engorde.

4.7 Estudios de laboratorio.

A) Patológico

En este sentido se observó que la adición de dilución del probiótico (*bacillus subtilis*), en la dieta, a través del consumo de agua demostró la capacidad de disminuir la población de Salmonella. Resultados que son reafirmados por Aguavil (2012) como resultado de su estudio bacteriológico se comprobó que los tratamientos con probióticos no presentaron infección por Salmonella, mientras que el tratamiento testigo si presento infección por agentes patógenos.

Para determinar este análisis bacteriológico se tomaron muestras de intestinos, de todos los tratamientos al día 21 y 42 de vida de los pollos de engorde. Trazando de 3 a 4 pequeños corte de aproximadamente 1cm para colocarlos en el caldo bacteriológico, el mismo que luego de introducir las muestras se llevaron a un proceso de cultivación por 48 horas para reconocer los resultados finales. De los cuales los tratamientos T1, T2 y T3, no presentaron agentes patógenos. Esto no sucedió con el grupo testigo T0, el cual si presentó Salmonella. En detalle se puede observar los informes del laboratorio (anexo 3, 4, y 5).

B) Vellosidades

Se tomaron fotografías de las vellosidades (ver anexo 6 y 7) y luego se realizó comparaciones respecto a la altura o crecimiento de las vellosidades (ver tabla 12 y 13) en el duodeno, a 21 y 42 días de edad, se observó que los pollos que recibieron los probióticos, presentan los valores más altos. No obstante, No se encontraron diferencias estadísticas al comparar la media de tratamientos para las variables Altura de las vellosidades, profundidad de criptas, relación vellosidad-cripta en duodeno, entre los tratamientos.

Tabla 12. Resultados de muestras histológicas de pollos de engorde: altura de vellosidades “día 21”.

TRATAMIENTO	DUODENO	YEYUNO
T0	1435,6	1100,7
T1	1370,6	1110,8
T2	1490,0	1200,3
T3	1330,8	1105,0

Tabla 13. Resultados de muestras histológicas de pollos de engorde: altura de vellosidades “día 42”.

TRATAMIENTO	DUODENO	YEYUNO
T0	1755,1	1470,9
T1	1740,2	1395,0
T2	1800,5	1500,3
T3	1700,7	1380,2

4.8 Mortalidad

Respecto a la mortalidad en el presente estudio, la tabla 12 describe como el grupo T0 es el tratamiento con mayor porcentaje (2 %) seguido de T1, T2 y T3, estos tres con el (0%) por lo tanto, se demostró que las diluciones del probiótico *bacillus subtilis* sobre los parámetros productivos del pollo de engorde, ayudan a reducir el porcentaje de mortalidad en las aves del experimento. Cabe señalar que la mortalidad no se produjo por enfermedades registradas o suscitadas durante el ensayo. Esto concuerda con la investigación realizada por Gutiérrez (2017), el

registra la mortalidad más baja en pollos suplementados con un probiótico en el agua.

*Tabla 12.*Tabla de Mortalidad durante las 6 semanas.

PARÁMETRO	D1	D2	D3	T
Morbilidad	0%	0%	0%	0%
Mortalidad	0%	0%	0%	2 %
Viabilidad	100%	100%	100%	98%
Sacrificio excepcional muestras 21 y 42 día	2 pollo	2 pollo	2 pollo	2 pollo

5. CAPITULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. Conclusiones

Se determina en concordancia con Medina et al. (2017) y Barros (2018) que el probiótico *Bacillus subtilis* no es un antibiótico, pero si se formula correctamente en la dieta, a través del consumo de agua. En este sentido, se considera como coadyuvante para proteger la salud de los pollos y con esto permite actuar de manera positiva en los rendimientos zootécnicos.

La presente investigación determina que mediante la inclusión del probiótico (*Bacillus subtilis*) diluido en el agua de bebida durante el ciclo productivo de pollos de engorde, beneficia los parámetros productivos y mantiene los pollos inmunocompetentes para asimilar los nutrientes proporcionados.

Los resultados indican que las diluciones del probiótico *Bacillus subtilis*, tienen un efecto positivo en los parámetros productivos de los pollos de engorde, lo cual se vio reflejado en la ganancia de peso y en la conversión alimenticia, al ser comparados numéricamente con la población que utilizó antibióticos. Datos que concuerdan con Barros (2018) en sus parámetros productivos.

Además se especifica que sobre los rangos que denotan la etapa de finalización presentan cambios estadísticos significantes como lo es peso de canal. En donde los tratamientos D2 y D3 con uso de probióticos logran superar el peso presentado por el tratamiento con antibiótico (control). Sin embargo se destaca que el tratamiento D2 es el que mejor logro adecuarse, presentando un balance en consumo, peso e índice de conversión, durante toda la etapa de vida del pollo de engorde.

5.2. Recomendaciones

Sugerir el uso la adición de dilución del probiótico (*bacillus subtilis*), en concentraciones superiores a la de esta investigación y suministrar en la dieta, a través del consumo de agua o alimento a nivel intensivo, para comprobar su efecto bajo desafíos presentes en dichas explotaciones y para obtener datos representativos.

Realizar estudios comparativos del probiótico *bacillus subtilis*, tanto nativo como comercial, para diferenciar los cambios que se presenten.

No suspender la dosificación del probiótico (*bacillus subtilis*), en la dieta, a través del consumo de agua ya que los resultados manifestaron que no hay antagonismo en ninguno de los procesos antes realizados.

Evaluar este probiótico (*bacillus subtilis*), en la dieta de otras especies zootécnicas, para tomar en consideración las bondades, principalmente por su alto poder de protección intestinal, para que contribuya al desarrollo y crecimiento de estos.

6. Bibliografía

- Acevedo, D., Montero , P., & Jaimes, J. (2015). Determinación de Antibióticos y Calidad Microbiológica de la Carne de Pollo Comercializada en Cartagena (Colombia). *Revista Información tecnológica. ISSN 0718-0764*, 26(1), 71-76.
- Aguavil Enrriquez, Juan Carlos. (2012). Evaluación del efecto de un probiótico nativo elaborado en base a *Lactobacillus acidophilus* y *Bacillus subtilis* sobre el sSistema gastrointestinal en pollos broiler Ross-308 en Santo Domingo de los Tsáchilas. Santo Domingo _ Ecuador. Tesis.
- Arévalo Castro , R. P. (2016). Efecto de la enterogermina (Esporas de *Bacillus clausii*) en *comportamieno productivo de pollos de engorde*. Universidad Técnica de Ambato. Ambato: UTA.
- Barros Cajilima, María Verónica. (2018). Uso de probióticos en la alimentación de pollos Broiler con diferentes porcentajes de inclusión. Cuenca _ Ecuador. Tesis.
- Blajman, Jesica E, Zbrun, María V, Astesana, Diego M, Berisvil, Ayelén P, Romero Scharpen, Analía, Fusari, Marcia L, Soto, Lorena P, Signorini, Marcelo L, Rosmini, Marcelo R, & Frizzo, Laureano S. (2015). Probióticos en pollos parrilleros: una estrategia para los modelos productivos intensivos?. *Revista argentina de microbiología*, 47(4), 360-367. <https://dx.doi.org/10.1016/j.ram.2015.08.002>
- Fajardo-Zapata, Á. L., Méndez-Casallas, F. J., & Molina, L. H. (2011). Residuos de fármacos anabolizantes en carnes destinadas al consumo humano. *Revista Universitas Scientiarum. ISSN: 0122-7483*, 16(1), 77-91.
- Friedman , A., y Weil, B. (2010F). *Producción Avícola, negocio en crecimiento*. Agencia del Gobierno de los EE.UU. para el Desarrollo Internacional (USAID). EE.UU: USAID.
- Gutiérrez Murillo , S. M. (2017). *Efeto Simbiótico a base de Sacchromyces cerevisiae y Bacillus subtilis sobre parámetros zootécnicos en pollos Cobb 500*. Manabí: ESPAM.
- Gutiérrez, L. A., Bedoya, O., & Arenas, J. E. (2015). Evaluación de parámetros productivos en pollos de engorde suplementados con microorganismos probióticos. *Revista. Temas Agrarios*, 20(2), 81 - 85.
- Industria Avicola. (abril de 2018). empresas lideres 2016- 2017. *pollos 2016- 2017*, 65(4).
- Islas Dávila, E. (2003). *Efecto de la dieta en base a aminoácidos totales y digestibles sobre la calidad de la canal de pollo de engorda*. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, División de Ciencia Animal. Buenavista, Mexico: UAAAN.
- Medina, T., Arroyo, G., Mexicano, L., y Herrera, C. y. (2017). *Bacillus subtilis* como probiótico en avicultura: aspectos relevantes en investigaciones recientes. *Abanico veterinario, ISSN 2007-428X*, 7(3), 14-20. . Recuperado el 2019 de enero de 2018, de <http://www.scielo.org.mx/pdf/av/v7n3/2448-6132-av-7-03-00014.pdf>

- Milián, G., Pérez, M., y Bocourt, R. (2008). Empleo de probióticos basado en *Bacillus* sp y de sus endosporas en la producción avícola. *Revista Cubana de Ciencia Agrícola*. ISSN: 0034-7485, 42(2), pp. 117-122.
- Ministerio de Agroindustria de la Provincia de Buenos Aires. (2018). *Manual de Avicultura*. Dirección de Escuelas Agrarias . Buenos Aires: INTA.
- Monroy Torre, R., Linares Segovi, B., & Ramírez Gómez, X. S. (enero-junio de 2015). Desarrollo de una técnica para la detección in vitro de la presencia de antibióticos en muestras de hígado de res, cerdo y pollo. SSN 2007-7521. *Red de Revistas Científicas de América Latina y el Caribe, España y Portugal*, 9(2), 68-73. Recuperado el 06 de noviembre de 2018, de Redalyc: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=441942933007>
- Olveira Fuster, G., & González-Molero, I. (2007). Probióticos y prebióticos en la práctica clínica. *Nutrición Hospitalaria*. *Nutr Hosp*. ISSN 0212-1611, 22(2), :26-34.
- Osorio, C., Icochea, E., Reyna, P., Guzmán, J., F, C., & Carcelén, F. (2010). *Comunicación Comparación del rendimiento productivo de pollos de carne suplementados con un probiótico versus un antibiótico*. Recuperado el 2018 de enero de 2018, de http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S1609-91172010000200011&script=sci_arttext
- Pacheco Gil, L. (2012). La resistencia a antibióticos: El efecto colateral. *Horizonte Sanitario*. ISSN: 1665-3262, 11(1), pp. 24-31.
- Romero Trujillo, T. (2017). *Estudio de factibilidad para la producción y comercialización de pollos criollos en el cantón La Joya de los sachas, provincia de Orellana*. Universidad Nacional de Loja. Loja: UTPL.
- SENPLADES (Secretaría Nacional de Planificación y Desarrollo). 2017. *Plan Nacional de Desarrollo 2017-2021-Toda una Vida*. Quito, Ecuador: © Senplades.
- Valdiviezo Hallo, M. F. (2012). *Determinación y comparación de parámetros productivos en pollos broiler de la línea Cobb 500 y Ross 308, con y sin restricción alimenticia*. Escuela Superior Politécnica del Chimborazo. Chimborazo: ESPOCH.

7. Anexos

Anexo.1. Evolución de la producción nacional de pollos de engorde 2012- 2017

Fuente: (Industria avícola, 2018)

Evolución de la producción nacional de pollos de engorde 2013 – 2017					
País	2013	2014	2015	2016	2017
Argentina	850,00	850,00	880,00	705,00	722,00
Bolivia	179,90	179,90	179,90	179,90	226,89
Brasil	5608,00	5782,00	6050,00	5804,30	6100,00
Chile	252,00	252,00	240,00	240,00	286,00
Colombia	608,00	700,00	730,00	711,26	774,00
Costa Rica	75,00	75,00	72,00	72,00	74,00
Ecuador	230,00	230,00	230,00	230,00	250,00
El Salvador	52,20	52,20	52,20	55,00	55,00
Guatemala	138,40	152,24	162,88	162,88	162,88
Honduras	92,76	92,76	92,76	100,00	100,00
México	1471,13	1525,50	1612,88	1667,63	1727,30
Nicaragua	62,40	62,40	63,80	63,80	63,80
Panamá	91,04	104,00	104,00	104,40	107,57
Paraguay	49,60	49,60	70,00	65,70	67,21
Perú	568,00	568,00	673,00	689,60	702,70
República Dominicana	164,00	174,00	180,00	180,00	221,00
Uruguay	29,00	29,00	28,00	25,00	32,20
Venezuela	584,72	584,72	351,00	263,00	252,67
TOTALES	11106,15	11463,32	11772,42	11319,47	11925,22

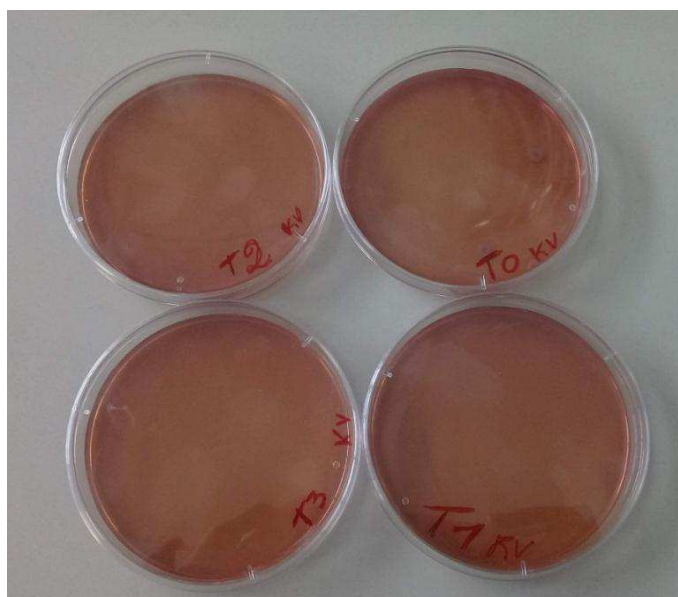
Anexo.2. Consumo per cápita de países de Latinoamérica.

Fuente: (Industria avícola, 2018)

País	Consumo pollo. Kilogramos /Personas	Consumo huevo. Unidades/ personas
Argentina	47,00	271
Bolivia	33,00	138
Brasil	41,10	190
Colombia	31,10	263
Costa Rica	26,50	206
Chile	30,00	205
Ecuador	35,00	140
El Salvador	20,75	204
Guatemala	17,70	162

País	Consumo pollo. Kilogramos /Personas	Consumo huevo. Unidades/ personas
Honduras	20,25	135
México	27,46	387
Nicaragua	22,90	115
Panamá	41,31	154
Paraguay	20,00	130
Perú	45,35	198
República Dominicana	33,00	155
Uruguay	24,40	272
Venezuela	37,32	188

Anexo.3. Fotos de estudio bacteriológico día 21



Anexo.4. Fotos de estudio bacteriológico día 21 (probióticos sin presencia se Salmonella)



D1

D2

D3

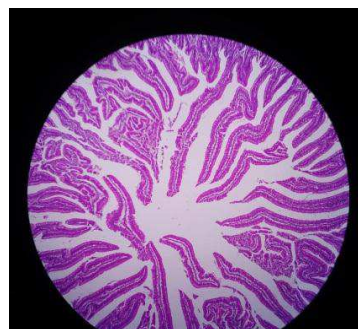
Anexo.5. Fotos de estudio bacteriológico día 21 (Antibiótico con presencia se salmonella)



Anexo.6. Estudio patológico de vellosidades intestinales ejemplo de observación.



DUODENO TESTIGO

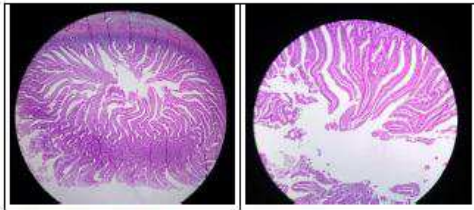


YEYUNO TESTIGO

Anexo.7. Estudio patológico de vellosidades intestinales, porción duodeno y yeyuno día 21.

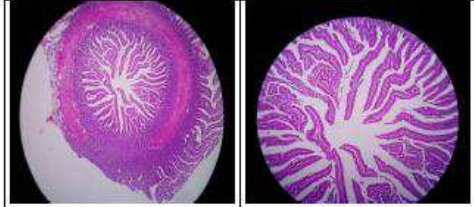
CENTRO DE ESPECIALIDADES MÉDICAS "SINAI"
Dirección: Portoviejo, entre calle 10 de Agosto y Francisco Pacheco.
Teléfonos: 2654216 - 0994787715

FOTOS DEL INTESTINO DELGADO T0 DUODENO Y YEYUNO.



T0 Duodeno panorámica

T0 Duodeno vellosidades

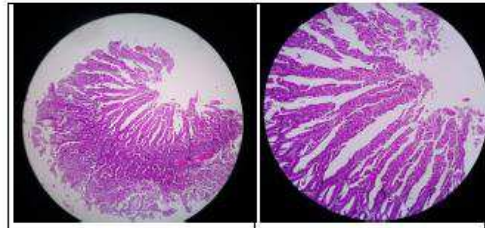


T0 Yeyuno panorámica

T0 Yeyuno vellosidades

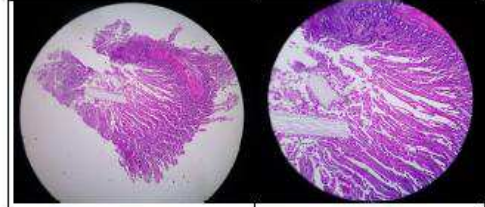
CENTRO DE ESPECIALIDADES MÉDICAS "SINAI"
Dirección: Portoviejo, entre calle 10 de Agosto y Francisco Pacheco.
Teléfonos: 2654216 - 0994787715

FOTOS DEL INTESTINO DELGADO T2 DUODENO Y YEYUNO.



T2 Duodeno panorámica

T1 Duodeno vellosidades



T2 Yeyuno panorámica

T2 Yeyuno vellosidades

Anexo.8. Estudio de viabilidad del *Bacillus subtilis*: conteo de UFC.



Anexo.9. Recibimiento de pollos bebe día 0 (31/07/2018).



Anexo.10. Toma de valores diarios (peso, temperatura, consumo agua y alimento
TRABAJO DE CAMPO.

