

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



**“EFECTO DEL POLEN, LACTOSA Y SU COMBINACIÓN EN
LOS ÓRGANOS INMUNES Y SOBRE LAS POBLACIONES
MICROBIANAS CECALES DE POLLOS BROILERS”**

Trabajo de investigación previo a la obtención del título de:
MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA.

Autor:

Carlos Gustavo Chico Robalino

Tutor(a):

Dra. Mg. MAYRA ANDREA MONTERO RECALDE.

Cevallos- Ecuador

2019

DECLARACIÓN DE ORIGINALIDAD

El suscrito CARLOS GUSTAVO CHICO ROBALINO, portador de la cédula de identidad número: 1803727385, libre y voluntariamente declaro que el Informe Final del Proyecto de Investigación titulado: **“EFECTO DEL POLEN, LACTOSA Y SU COMBINACIÓN EN LOS ÓRGANOS INMUNES Y SOBRE LAS POBLACIONES MICROBIANAS CECALES DE POLLOS BROILERS”** es original, autentico y personal. En tal virtud, declaro que el contenido es de mi sola responsabilidad legal y académica, excepto donde se indican las fuentes de información consultadas.

Carlos Gustavo Chico Robalino

C.C: 1803727385

DERECHOS DE AUTOR

Al presentar este Informe Final del Proyecto de Investigación titulado “**EFFECTO DEL POLEN, LACTOSA Y SU COMBINACIÓN EN LOS ÓRGANOS INMUNES Y SOBRE LAS POBLACIONES MICROBIANAS CECALES DE POLLOS BROILERS**” como uno de los requisitos previos para la obtención del título de grado de Médico Veterinario y Zootecnista, en la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Técnica de Ambato, autorizo a la Biblioteca de la Facultad, para que este documento esté disponible para su lectura, según las normas de la Universidad.

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

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

Carlos Gustavo Chico Robalino

C.C: 1803727385

**“EFECTO DEL POLEN, LACTOSA Y SU COMBINACIÓN EN LOS
ÓRGANOS INMUNES Y SOBRE LAS POBLACIONES MICROBIANAS
CECALES DE POLLOS BROILERS”**

REVISADO POR:

Dra. Mayra Andrea Montero Recalde, Mg.

TUTOR

Dr. Marco Rosero Mg.

ASESOR DE BIOMETRÍA

APROBADO POR LOS MIEMBROS DE TRIBUNAL DE CALIFICACIÓN

FECHA

Ing. Hernán Zurita Vásquez, Mg.

PRESIDENTE DEL TRIBUNAL DE CALIFICACIÓN

Ing. Ricardo Guerrero, Mg.

MIEMBRO DEL TRIBUNAL DE CALIFICACIÓN

Ing. Patricio Núñez, Mg.

MIEMBRO DEL TRIBUNAL DE CALIFICACIÓN

AGRADECIMIENTO

Agradezco a mis padres, Carlos y Carmelita, quienes siempre estuvieron ahí, apoyándome día a día, a mi hermana, María Elena, quien me demostró lo que es ser una persona perseverante, no creo poder alcanzar a agradecerles todo lo que han hecho por mí, Papi, Mami, Ñaña, Sebas, gracias por siempre recordarme que en la vida ¡Si se puede!

A mis tíos quienes a través de sus enseñanzas me han sabido inculcar respeto, conocimiento y valores que llevo siempre impregnados en mi corazón, gracias por ser mis guías en el duro camino que es madurar y crecer como persona.

A mis primos, mis hermanos quienes me han impulsado a seguir adelante, aun cuando las razones son pocas, ustedes están ahí.

A Verónica quien siempre supo darme apoyo y motivarme para poder culminar mi vida estudiantil y estar ahí en los momentos más duros.

DEDICATORIA

A mi primo Luis Robalino †, la vida en ocasiones nos lleva por caminos diferentes y nos separa de las personas que apreciamos, mi hermano, primo y amigo, lo logramos.

A mi sobrino, Sebastián, eres la luz de mi vida, no hay oscuridad que tu sonrisa no haga desaparecer, te apoyaré en cada camino que tomes, para que siempre puedas ser el número uno. Amor, Suerte, Éxito, Felicidad y mucho más son las cosas que tu tío desea para ti. ¡Que siempre sonrías, sobrino!

ÍNDICE

Portada.....	i
Declaración de originalidad	ii
Derechos de autor.....	iii
Agradecimiento.....	v
Dedicatoria	vi
Índice de tablas.....	ix
Índice de anexos.....	x
Resumen.....	xi
Summary.....	xii

CAPÍTULO I

I. Introducción.....	1
----------------------	---

CAPÍTULO II

II. Revisión de literatura o marco teórico.	3
2.1 Antecedentes investigativos.....	3
2.2 Categorías fundamentales	9
2.2.1 Polen.....	9
2.2.2 Lactosa.....	10
2.2.3 Órganos linfoides.....	10
Timo.....	11
Bolsa de fabricio.	11
Bazo.....	13
Índices morfométricos.....	14
Relación entre bursa, bazo y timo	15
2.2.4 Población microbótica cecal.....	15
2.2.5 Placas petrífilm para recuento de unidades formadoras de colonias.	18
2.2.6 Pollos broiler (cobb 500).	19

CAPÍTULO III

III. Hipótesis y objetivos.....	20
3.1 Hipótesis:	20
3.2 Objetivos:	20
3.2.1 Objetivo general.....	20
3.2.2 Objetivos específicos.	20

CAPÍTULO IV

IV. Materiales y métodos.	21
4.1 Ubicación del experimento.	21
4.2 Características del lugar.	21
4.3 Equipos y materiales.	21
4.4 Factores en estudio.....	22
4.5 Tratamientos.	23
4.6 Diseño experimental.	23
4.7 Manejo del experimento.	23
4.7.1. Metodología de campo.	23
4.7.2. Metodología de laboratorio.	24
4.8 Variables respuesta	26
4.9 Procesamiento de la información.....	26

CAPÍTULO V

V. Resultados y discusión.....	27
5.1 Resultados.....	27
5.1.1 Índices morfométricos de la bursa, bazo y timo de los pollos de engorde.....	27
5.1.2 Relaciones entre la bursa, bazo y timo de los pollos de engorde.	27
5.1.3 Unidades formadoras de colonias.	28
5.2 Discusión.....	28

CAPITULO VI

VI. Conclusiones, bibliografía y anexos	31
6.1 Conclusiones.	31
6.2 Bibliografía.	31
6.3 Anexos	38

CAPÍTULO VII

VII. Propuesta	40
7.1 Datos informativos.....	40
7.2 Antecedentes de la propuesta.....	44
7.3 Justificación	44
7.4 Objetivos.....	45
7.5 Análisis de factibilidad	45
7.6 Fundamentacion.....	45
7.7 Metodología	46
7.8 Administración.....	47
7.9 Previsión de la evaluación	47

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Condiciones meteorológicas	21
Tabla 2. Distribución de tratamientos	23
Tabla 3. Resumen ADEVA y Tukey para Índices Morfométricos de los Órganos Linfoides.	27
Tabla 4. Resumen ADEVA y Tukey para Relaciones entre Órganos Linfoides	27
Tabla 5. Resumen ADEVA y prueba de Tukey para UFC de enterobacterias	28
Tabla 7. Resumen ADEVA y prueba de Tukey para UFC de <i>E. coli</i>	28

INDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Adecuación del galpón.	38
Anexo 2. Elaboración de los tratamientos.....	38
Anexo 3. Recepción de los pollitos bb y distribución por tratamientos	38
Anexo 4. Captura de los pollos que fueron utilizados para medición de parámetros morfológicos.	39
Anexo 5. Toma de datos de parámetros morfométricos.	39
Anexo 6. Recuento de UFC en placas petrifilm.....	39
Anexo 7. Índice Morfométrico de la Bursa.....	40
Anexo 8. Índice Morfométrico del Bazo.....	40
Anexo 9. Índice Morfométrico del Timo	40
Anexo 10. Prueba de Tukey en Índices morfométricos de la bursa, bazo y timo de los pollos de engorde.....	40
Anexo 11. Relación Bursa/Bazo.	41
Anexo 12. Relación Bursa/Timo.....	41
Anexo 13. Relación Timo/Bazo.....	41
Anexo 14. Prueba de Tukey en relaciones entre la bursa, bazo y timo de los pollos de engorde.....	41
Anexo 15. UFC de Enterobacterias.....	42
Anexo 16. UFC <i>Escherichia coli</i>	42
Anexo 17. Prueba de Tukey para UFC de bacterias en ciegos de pollos.....	42
Anexo 18. Dietas para la etapa Pre-Inicial.....	42
Anexo 19. Dietas para la etapa Inicial.	43

RESUMEN

En la presente investigación se evaluó el efecto del polen, lactosa y su interacción sobre los órganos linfoides y población microbiana cecal en pollos de engorde de línea genética Cobb 500. El estudio se realizó preparando cuatro dietas, la primera T0 sin ningún aditivo, la segunda T1 con polen al 0,5%, la tercera T2 con lactosa al 2,5% y finalmente la cuarta T3 con la combinación de los dos aditivos antes mencionados y a la misma concentración. Las dietas en experimentación fueron administradas solamente durante las dos primeras etapas de desarrollo (pre-inicial e inicial). Se utilizaron para el análisis 40 animales, con 10 unidades experimentales para cada dieta. El día 14 se sacrificó un animal de cada unidad experimental para tomar longitud, peso y pH de los órganos del tracto digestivo. Se utilizó Análisis de Varianza ADEVA y prueba de Tukey para procesar los datos recopilados en lo relacionado a órganos linfoides y en unidades formadoras de colonias (UFC). Dentro del estudio de los índices morfométricos (I.M.) se encontró diferencias significativas entre las medias de los tratamientos en el I.M. Bursa ($P=0.0199$), donde el mejor tratamiento fue T1 (0,5% polen). En el caso de I.M. Bazo y I.M. Timo, no se observó significancia estadística entre las medias de los tratamientos ($P>0,05$) respectivamente. En cuanto a la relación entre órganos como; Bursa/Bazo, Bursa/Timo y Timo/Bazo, no se encontró diferencia estadística para ningún tratamiento ($P>0,05$). Dentro de las unidades formadoras de colonias, para enterobacterias, se observó significancia estadística entre tratamientos ($P<0.05$), siendo el mejor T2 (2,5% lactosa), mientras que para UFC de *E. coli* se pudo observar que tanto T2 (2,5% lactosa) y T3 (0,5%polen+2,5% lactosa) actuaron de similar manera reduciendo su número en ciegos.

Palabras claves: Polen, lactosa, índices morfométricos, relación entre órganos, unidades formadoras de colonias.

SUMARY

In the present investigation, the effect of pollen, lactose and its interaction on lymphoid organs and cecal microbial population in broilers of Cobb 500 genetic line was evaluated. The study was carried out preparing four diets, the first T0 without any additive, the second T1 with 0.5% pollen, the third T2 with 2.5% lactose and finally the fourth T3 with the combination of the two aforementioned additives and at the same concentration. The experimental diets were administered only during the first two stages of development (pre-initial and initial). 40 animals were used for the analysis, with 10 experimental units for each diet. On day 14 an animal of each experimental unit was sacrificed to take length, weight and pH of the organs of the digestive tract. ADEVA Variance Analysis and Tukey test were used to process the data collected in relation to lymphoid organs and colony forming treatments (CFU) of the bacteria. In the study of the morphometric indices (I.M.), significant differences were found between the means of the treatments in the I.M. Bursa ($P = 0.0199$), where the best treatment was T1 (0.5% pollen). In the case of I.M. Spleen and I.M. Thymus, no statistical significance was observed between the means of the treatments ($P > 0.05$) respectively. As for the relationship between organs like; Bursa / Spleen, Bursa / Timo and Timo / Spleen, no statistical difference was found for any treatment ($P > 0.05$). Within the colony forming units, for enterobacteria, statistical significance was observed between treatments ($P < 0.05$), being the best T2 (2.5% lactose), while for UFC of *E. coli* it was observed that both T2 (2.5% lactose) and T3 (0.5% pollen + 2.5% lactose) acted in a similar way reducing their number in the cecum.

Keywords: Pollen, lactose, morphometric indexes, relationship between organs, colony forming units.

CAPÍTULO I

I. INTRODUCCIÓN.

La avicultura es uno de los sectores pecuarios con mayor crecimiento en el mundo a partir del año 1961 hasta la actualidad (Nico & Davies, 2013). Dicho crecimiento, acelerado, se debe al bajo costo de producción, directamente influenciado por los avances tecnológicos, bioseguridad, optimización de los espacios de crianza y disminución de los precios de venta (Errecart, 2014). En Ecuador según la Corporación Nacional de Avicultores del Ecuador, se consumen en promedio 21,10 kg de carne de pollo al año (CONAVE, 2015), siendo mayor al consumo de la carne de cerdo (12kg) y res (10 kg), por lo cual este sector representó el 27% del Producto Interno Bruto (PIB) agropecuario (Pérez, 2015).

El polen de abeja (PA) es un aglomerado de polen de flores recolectado por las abejas que son mezclados con néctar y la secreción de las glándulas hipofaríngeas (Carpes, Prado, Moreno, Mourão, Alencar & Masson, 2008). El PA contiene aminoácidos, vitamina C y oligoelementos que son nutricionalmente beneficiosos para el desarrollo de las células del tejido, la proliferación celular epitelial, la diferenciación y el crecimiento de microbiota intestinal (Sun, Wang, LI & Shang, 2013) por ende actúa mejorando la eficiencia en el uso de nutrientes, aumentando su absorción, acelerando su crecimiento e incrementando el rendimiento productivo del animal (Neves, Alencar & Carpes, 2009).

Por otra parte, la lactosa no se absorbe del intestino en aves debido a la incapacidad de secretar lactasa, esta se fermenta en el tracto posterior (Quiroga, Atxaerandio, Ruiz & García, 2015), dando origen al ácido láctico y ácidos grasos volátiles (AGV), que pueden estimular la colonización de lactobacilos en el tracto intestinal (Hume *et al.*, 1992). Existe una creciente evidencia de que las elevadas concentraciones de AGV están relacionadas con la disminución del pH cecal y la alteración de los potenciales de oxidación y reducción, lo que puede suprimir el crecimiento de bacterias patógenas (Corrier *et al.*, 1990).

Desde la llegada de los pollos a la granja y en algunos casos hasta momentos antes de salir al matadero se utiliza antibióticos, el exceso en su empleo ha permitido la aparición de cepas resistentes a los mismos (Diarra, Fred, Fatoumata, Jane, Luke, Roland, Claudie, Pascal, Susan, Brent & Edward, 2007), por medio de genes que codifican enzimas como las β -lactamasas los que pueden encontrarse en el cromosoma bacteriano o en plásmidos, lo cual permite su fácil transferencia entre diferentes bacterias (Tafúr, Tórres, & Villegas, 2008). El consumo de las aves tratadas con antibióticos tiene un estatus de amenaza a la salud pública a nivel mundial, siendo así que en la Unión Europea han quedado totalmente prohibido como promotores de crecimiento en alimentación animal (Torres, & Zarazaga, 2002).

El ecosistema intestinal juega un importante rol dentro del bienestar y salud de las aves, estableciéndose allí entre un 70%-80% del sistema inmune, las bacterias benéficas esenciales para el buen funcionamiento del intestino influyen en su maduración, ayudan a una mejor utilización de los nutrientes presentes en los alimentos que ingieren (Biosacolombia, 2016). Las bacterias probióticas una vez activadas por la acción del pH intestinal, forman bacteriocinas que pueden servir como barreras antimicrobianas y ayudar a reducir los niveles de microorganismos patógenos (Monroy *et al.*, 2009).

En las aves el sistema inmunológico es dependiente de órganos linfoides primarios como la Bolsa de Fabricio o bursa y el Timo, así como de los secundarios tales como el bazo, entre otros (Cortés & Villamarín, 2013). En la Bursa se diferencian los linfocitos B y en el timo, linfocitos T, a partir de células primordiales que provienen de la médula ósea o del saco vitelino durante la fase embrionaria, razón por la cual el desarrollo de estos órganos linfáticos es importante para conocer la funcionalidad protectora del sistema inmunitario de los pollos (Arteaga, 2016).

Consecuentemente la presente investigación evalúa el uso del polen, la lactosa y su combinación sobre los órganos inmunes y poblaciones microbianas del ciego de pollos broilers, suministrado a través del alimento, debido a que tanto el polen y lactosa han sido utilizados y estudiados de manera limitada en aves, habiendo pocas investigaciones en este campo.

CAPÍTULO II

II. REVISIÓN DE LITERATURA O MARCO TEÓRICO.

2.1 ANTECEDENTES INVESTIGATIVOS.

Oliveira, Loch, & Silva, (2015) en la investigación acerca del uso del polen de abeja en la alimentación de pollos de engorda, observaron el efecto del PA en la dieta de pollos de engorda el cual se evaluó sobre la digestibilidad, rendimiento, mucosa intestinal, la calidad de la cama y el amoniaco volatilizado. Para evaluar la digestibilidad, se utilizaron 200 aves en un diseño de bloques al azar con cuatro tratamientos (0, 0.5 y 1.0°/o de inclusión de PA) y cinco repeticiones. El PA mejoró el rendimiento del páncreas, de vellosidades, la morfología en el duodeno y el yeyuno a los 21 días, y en el íleon a los 42 días y la volatilización de amoníaco. Como conclusión, incluyendo 1.5% de polen de abeja mejora la digestibilidad de los nutrientes y la morfología intestinal, mientras que el comportamiento productivo se vio mejorado al utilizar un nivel de inclusión de 0,5% de PA.

Caicedo, (2018), evaluó el efecto del polen, lactosa y su interacción sobre los parámetros productivos y digestivos de pollos de engorde de línea genética Cobb 500. El estudio se realizó preparando cuatro dietas, la primera sin ningún aditivo, la segunda con polen al 0,5%, la tercera con lactosa al 2,5% y finalmente la cuarta con los dos aditivos antes mencionados combinados y a la misma concentración. Las dietas en experimentación fueron administradas solamente durante las dos primeras etapas de desarrollo (pre-inicial e inicial). Se utilizaron para el análisis 480 animales. Dentro de los parámetros productivos tenemos que la mortalidad final en los pollos que consumieron la dieta testigo (T1) (13,04%) presentaron una mortalidad casi del triple para el tratamiento 2 (5,22%) y del doble con relación al tratamiento 3 (6,96%) y al tratamiento 4 (6,09%). Generando los mejores resultados a nivel productivo la dieta elaborada con polen al 0,5%, y a nivel digestivo la dieta que contenía lactosa al 2,5%.

Escobar, (2018) estudió el efecto del polen, lactosa y su combinación sobre la digestibilidad e integridad de la mucosa en pollos broiler, el estudio se realizó

preparando cuatro dietas, la primera sin ningún aditivo, la segunda con polen al 0,5%, la tercera con lactosa al 2,5% y finalmente la cuarta con los dos aditivos antes mencionados combinados y a la misma concentración. Las dietas en experimentación fueron administradas solamente durante las dos primeras etapas de desarrollo (pre-inicial e inicial). Determinando que la inclusión de polen al 0,5% en dietas alimenticias para pollos mejora la digestibilidad de MS y MO; sin embargo la inclusión de lactosa al 2,5% aumenta la digestibilidad de PC y Grasa, debido a su composición química y calidad de los nutrientes.

Yu-xin. Cheng (2009), estudió el efecto del polen de abeja en el crecimiento de los órganos inmunes en pollos de engorde, en 272 pollos de engorde de un día de edad (Cobb 500) los cuales se dividieron al azar en 4 grupos con 2 repeticiones por grupo, tomando en cuenta 34 pollos de engorde para cada repetición, el Grupo I fue control en blanco, y se añadió 0,5%, 1,0% y 1,5% de polen de abeja al Grupo II, III y IV respectivamente. Se pesó cuatro pollos al llegar a las edades de 7, 14, 21, 28, 35 y 42 días de edad en cada repetición, además se registró el peso vivo del ave y el peso fresco de los órganos inmunes (bazo, timo y bursa), calculandose los índices de órganos inmunológicos. Los resultados mostraron que el índice de bazo del grupo III fue significativamente menor que el del grupo de control (P0.05) cuando tenían 35 días de edad; la del Grupo IV fue significativamente menor que la del Grupo de control (P0.05) cuando tenían 42 días. No hubo diferencias significativas entre todos los grupos de días en el índice de timo (P0,05). El índice de la bolsa de Fabricio del Grupo IV fue obviamente mayor que la del grupo de control (P0,05) cuando tenían 35 días de edad.

Wang, Jin, Zheng, Li, & Wang, (2005), investigaron el efecto del polen sobre el desarrollo del órgano inmune de las aves. Para lo cual se tomó un total de 144 pollos de un día de edad los cuales fueron divididos al azar en 2 grupos, en los que cada grupo incluyó 72 pollos. El grupo de control fue alimentado con la dieta basal durante 42 días, y el del grupo experimental se le suplementó 1,5% de polen de abeja. Se seleccionó seis pollos en cada grupo y se sacrificaron a los 7, 14, 21, 28, 35, 42 días, respectivamente, obteniendose los timos, bolsa de Fabricio y bazos, los cuales se pesaron. Como resultado se obtuvo que en comparación con el grupo control, el peso de los timos, bolsa de Fabricio y bazos del grupo experimental

aumentaron significativamente ($P < 0,05$) o muy significativamente ($P < 0,01$). Siendo así que, en el grupo de experimentos, la corteza del lóbulo del timo, el nódulo de la bursa y las vainas linfáticas periarteriales se engrosaron; llegado a la conclusión de que el polen de abeja suplementado con dieta puede estimular el desarrollo temprano del timo y de la bolsa de Fabricio, retardando la degeneración de la bolsa de Fabricio y promoviendo la respuesta inmune del bazo.

Haščík *et al.*, (2013) en su investigación sobre el efecto de polen de abeja en la composición química de la carne de Ross 308 sobre todo en pechuga y los muslos de pollos broiler, en el cual se utilizó en grupos experimentales a los cuales se añadieron polen de abeja en una cantidad de (grupo E1 - 2 500 mg/kg -1, grupo E2 - 3 500 mg/kg -1 y E3 - 4 500 mg/kg -1) a las mezclas de alimentación para 42 días, se llegó a la conclusión de que el polen de abeja tiene un efecto positivo en la composición química de la carne de la pechuga de pollo de engorde, lo que llevó a aumentar el contacto con el agua y reducir el contenido de grasa además del valor de la energía, recalando que polen de abeja tiene efectos normales en el contenido de proteínas de los músculos del pecho y los muslos.

Corrier, Hinton, Ziprin, & DeLoach, (1990), evaluaron el efecto de la adición de lactosa en el alimento y la inoculación de cultivos de anaerobios productores de ácidos grasos volátiles de la flora cecal, sobre la colonización por *Salmonella typhimurium* en pollos de engorde. Para esto los pollitos de un día de edad fueron divididos en cuatro tratamientos: T0, Sin lactosa, sin anaerobios; T1, Sin lactosa, con anaerobios; T2, Anaerobios y lactosa durante los días 1 al 10; y T3, Anaerobios y lactosa durante los días 1 al 40. Todos los grupos fueron desafiados con *Salmonella* en dosis de 106 al día 3 y de 108 al día 33. El crecimiento de *Salmonella* en el contenido cecal disminuyó significativamente ($P < 0.01$) al día 10 en los pollos que recibieron lactosa del día 1 al 10. Sin embargo, las aves fueron susceptibles a la colonización por *Salmonella* después de la suspensión de la administración de lactosa en la dieta. El número de *Salmonella* en el ciego se redujo significativamente ($P < 0.05$) en los pollos que recibieron lactosa durante los 40 días del período de crecimiento. La lactosa de la dieta disminuyó el pH del contenido cecal y se acompañó de un marcado aumento de las concentraciones de ácidos grasos volátiles no disociados en el contenido cecal.

Hinton, Corrier, Ziprin, Spates, & DeLoachse, (1991) estudiaron la evaluación de la capacidad de cultivos anaeróbicos de materia cecal de pollo maduro almacenado a -70°C durante 1 a 10 meses para reducir la colonización de *Salmonella typhimurium* del ciego en pollitos jóvenes. Los tratamientos de los pollitos consistieron en la inoculación con cultivos anaeróbicos a partir de los materiales cecales y proporcionando o no la lactosa dietética (2,5%) de los polluelos. Los polluelos fueron desafiados a los 3 días de edad con 10⁶ *S. typhimurium*. Se sacrificaron los pollitos en el día 10, y se analizó su contenido cecal para determinar el pH, el potencial de oxidación-reducción, los ácidos grasos volátiles totales de cadena corta, el ácido láctico y la cantidad de *S. typhimurium* por gramo de contenido cecal. Se calculó la concentración cecal de AGV no disociada. Teniendo como resultado que la lactosa dietética produjo una disminución de 0,66 a 0,87 unidades en el pH cecal y un aumento significativo en las concentraciones de ácido láctico cecal, las concentraciones no disociadas de ácido cecal acético y propiónico y los potenciales de óxido-reducción cecal. El tratamiento de la combinación de anaerobios cecales del material cecal de 1 mes de edad y la lactosa dietética (2,5%) causaron una mayor reducción en la colonización cecal de *S. typhimurium* que cualquier otro tratamiento.

Ziprin, Elissalde, Hinton, Beier, Spates, Corrier, Benoit, & DeLoach, (1991), probaron que la inclusión de lactosa en las dietas de pollos reduce la colonización cecal con *Salmonella typhimurium*. Debido a que algunas cepas de *Salmonella* son atípicas y fermentan la lactosa, investigaron los efectos de la lactosa dietética en la colonización cecal con lactosa fermentante de *S typhimurium*. Tanto los pollos de engorde como los pollitos fueron inoculados intracloalmente con Lac + *S typhimurium* seleccionando por resistencia a novobiocina y rifampicina. A los pollitos de control no se les dio lactosa en la dieta, y los pollitos del grupo experimental recibieron una dieta que contenía lactosa al 7%. El tratamiento de Lac + *S typhimurium* en los contenidos cecales reveló que la lactosa dietética era eficaz para controlar este organismo. El control se correlacionó con cambios en el pH cecal y aumentos en ácidos grasos volátiles no disociados, especialmente ácido propiónico.

Carvajal, (2016) planteó su investigación con polen en 120 pollos “Cobb avian 48”, desde los 5 hasta los 48 días de vida, el modelo estadístico utilizado fue el diseño completamente al azar con 4 tratamientos (Control, tratamiento 2, 3 y 4; es decir, T0,

T1, T2, T3, respectivamente) y 2 repeticiones por tratamiento. Se utilizó polen en el agua de bebida para obtener tres concentraciones 0,252; 0,504 y 0,756 mg/ml, T1, T2, T3 respectivamente. Se evaluaron parámetros zootécnicos de consumo de alimento, ganancia de peso, conversión alimenticia, consumo total de polen y mortalidad. El polen empleado como aditivo en el consumo de las aves fue llevado a análisis de su actividad bactericida in vitro. Adicionalmente se evaluó el efecto del consumo de polen por las aves sobre la biota bacteriana benéfica en el tracto gastrointestinal por medio de recuentos microbiológicos de los *Lactobacillus* presentes en los ciegos. Los resultados obtenidos fueron consumo de alimento total T0 4.996,17± 52,02 g/ave; T1 4.966,07 ± 52,40 g/ave; T2 4.959,25 ± 51,72 g/ave; T3 4.828,62 ± 53,32 g/ave; ganancia de peso T0 2.393,80 ± 4,57 g; T1 2.394,29 ± 21,18 g; T2 2.295,47 ± 3,23 g; T3 2.378,10 ± 164,290 g; conversión alimenticia T0 2,24; T1 2,24; T2 2,33; T3 2,18; consumo total de polen T1 1790,12 mg; T2 3366,21 mg; T3 5044,20 mg. La concentración mínima inhibitoria (CMI) del propóleo frente a *Salmonella entérica sp* entérica serovar *Thyphimurium* ATCC 14028 fue de 0,0 mg/ml y para *Escherichia coli* ATCC 31617 fue de 0,8 mg/ml; las unidades formadoras de colonia (UFC) de *Lactobacillus* T0 4,5 X 10⁹; T1 9,5 X 10⁹; T2 14,75 X 10⁹; T3 60,75 X 10⁹.UFC.

Nisbet, Corrier, & DeLoach, (2015), en este experimento se prueba que la adición de lactosa a la dieta de pollos broiler, protege a los mismos de la colonización bacteriana, pudiendo utilizarla como prebiótico en lugar de antibióticos y evitar así la resistencia a los mismos, para esto fue evaluado el efecto del cultivo de FC y la lactosa en la colonización cecal de *Salmonella typhimurium* en pollos de engorde. Cuando se promediaron cuatro repeticiones, los polluelos tratados con el cultivo solo (disminución de 1,75 log10) o con 5% de lactosa dietética solo (disminución de 2,98 log10) se protegieron contra *S. typhimurium*. Se observó una protección óptima contra *S. typhimurium* cuando las aves fueron tratadas con el cultivo en combinación con lactosa dietética (disminución de 4,27 log10). La lactosa dietética produjo un pH cecal reducido. Se observó un gran aumento en el ácido propiónico cecal en las aves que recibieron el cultivo de FC. Se observó una correlación significativa (P <0,001) entre la concentración cecal de ácido propiónico no dissociado y la protección contra la colonización de *S. typhimurium* (r = -0,78). Los resultados indicaron que la flora

cecal autóctona que protege contra la colonización de *Salmonella* puede mantenerse sin pérdida de eficacia en el cultivo de FC.

Lee, Jung, Houde, & Baurhoo, (2008) prepararon un prebiótico galactooligosacárido (GOS) haciendo reaccionar una elevada concentración de lactosa (40% p / vol) con una enzima β -galactosidasa durante 24 ha 37°C. La enzima se produjo a partir de células recombinantes de *Pichia pastoris* X-33. El estudio tuvo como objetivo evaluar los efectos del prebiótico, un probiótico basado en *Bifidobacterium lactis*, y la combinación de estos aditivos en la dieta, la ingesta de alimento, la relación de conversión alimenticia y los recuentos fecales de bacterias anaerobias totales, lactobacilos y bifidobacterias en pollos de engorde. No se encontraron diferencias significativas en el peso corporal, la ingesta de pienso y la relación de conversión alimenticia entre los diferentes grupos. El estudio mostró que el GOS estimuló selectivamente la microflora fecal de pollos de engorde. Las bacterias anaerobias totales y los lactobacilos se incrementaron en 3,4 y 3,56 veces, respectivamente, en pollos alimentados con la dieta que contenía GOS (3 kg por 25 kg) y *B. lactis* durante 40 días en comparación con los alimentados con la dieta de control. La población de bifidobacterias en pollos alimentados con la dieta que contenía GOS (3 kg por 25 kg) y *B. lactis* aumentó significativamente 21 veces en comparación con las aves alimentadas con control. En particular, el aumento de la concentración dietética de GOS se acompañó de aumentos significativos ($P < 0,05$) en los recuentos de bifidobacterias. La población detectable de bifidobacterias fue también mayor ($P < 0,05$) en pollos alimentados con la dieta que contenía GOS y bifidobacterias en comparación con pollos alimentados con una ración que contenía bifidobacterias solamente. Estos resultados sugieren que el uso de GOS en combinación con un probiótico basado en *B. lactis* favoreció el crecimiento intestinal de bifidobacterias en pollos de engorde.

Mookiah, Sieo, Chin, Ramasamy, Abdullah, & Ho, (2014), en este estudio, en vista de un intento mundial de restringir o prohibir el uso de antibióticos como promotores del crecimiento en la producción animal, han sugerido como alternativas potenciales probióticos, prebióticos y combinaciones de ambos, como simbióticos. los efectos de lactosa, un probiótico multicepa (consistente en 11 cepas de *Lactobacillus*), y una combinación de estos aditivos dietéticos como un simbiótico en el rendimiento,

poblaciones de bacterias cecales y concentraciones de Ácidos grasos volátiles cecales y ácidos grasos no volátiles de pollos de engorde. En su experimentación obtuvieron los siguientes resultados: Suplementación de probiótico 1g/kg (PRO); 5g/kg 1 de lactosa prebiótico (PRE05); 10g/kg de lactosa prebiótico (PRE10); Simbiótico consistente en 1g/kg probiótico + 5g/kg prebiótico lactosa (SYN05); O simbiótico consistente en 1g/kg probiótico + 10g/kg prebiótico lactosa (SYN10) significativamente ($P < 0,05$) aumento de peso mejorado de pollos de engorde a los 22-42 y 1-42 días de edad, y la tasa de conversión de alimentación de 1 A 21, 22-42 y 1-42 días de edad. La suplementación de probióticos (PRO), prebióticos (PRE05 y PRE10) o simbióticos (SYN05 y SYN10) también aumentó significativamente ($P < 0,05$) las poblaciones cecales de lactobacilos y bifidobacterias, y disminuyó la *Escherichia coli* cecal a los 21 días de edad, y Aumentó el VFA cecal a los 21 y 42 días de edad. En todos los parámetros estudiados, los simbióticos no mostraron un doble efecto sinérgico, en comparación con los probióticos o prebióticos solos. Finalmente concluyen que el prebiótico, lactosa (5 g/kg-1 o 10 g/kg-1), el probiótico y sus combinaciones como simbióticos fueron eficaces para mejorar el rendimiento de los pollos de engorde y en el aumento de las bacterias benéficas cecales y ácidos grasos.

2.2 CATEGORÍAS FUNDAMENTALES

2.2.1 POLEN.

El polen de abeja es un producto natural e inocuo, que es recogido de las flores por las abejas melíferas obreras, es rico en: aminoácidos indispensables, vitaminas, flavonoides, carotenoides y fitoesteroles (Carpes, *et al.*, 2008). La cantidad de proteínas que contiene el polen supera a la de las semillas y granos de cereales, lo mismo ocurre con el contenido de aminoácidos superando el contenido de isoleucina, leucina y metionina cinco veces a la de la carne de vacuno y 6,5 veces, en fenilalanina y triptófano (Potschinkova, 1999).

Varios investigadores demostraron que el polen de abeja y el propóleo, podrían ser utilizados como promotores del crecimiento y potenciadores del sistema inmune como alternativa a antibióticos, además, el polen fue capaz de mejorar la salud de

aves de corral y las funciones gastrointestinales, además de; proteger los riñones y disminuir los triglicéridos, colesterol, creatinina y urea sanguínea (Attia, *et al.*, 2011).

2.2.2 LACTOSA.

La lactosa es un azúcar muy raro en la naturaleza, se sintetiza en la mama a partir de la glucosa sanguínea y en los rumiantes, a partir de ácidos volátiles, para numerosos animales, la lactosa es prácticamente la única fuente de galactosa (Alais, 1971). Se halla en una proporción de entre el 4% y el 5% en la leche de las hembras de los mamíferos, esta se obtiene comercialmente de la cristalización del suero de leche o bien, de suero desproteinado por ultrafiltración o coagulación por calor. (Corrier, 1990).

La lactosa no se absorbe en el intestino de aves de corral debido a la incapacidad para secretar lactasa, esta se fermenta en ácido láctico y ácidos grasos volátiles (AGV), lo que puede estimular la colonización de lactobacilos en el tracto intestinal (Hume *et al.*, 1992). La lactosa aumenta la acidez del ciego influyendo directamente en el crecimiento y la fermentación de la flora intestinal normal (Hume *et al.*, 1992). Hay una creciente evidencia de que la elevación de las concentraciones de AGV están relacionados con disminución de pH cecal y la oxidación y potenciales de reducción alterados, que pueden suprimir el crecimiento de bacterias patógenas (Gülşen, Coşkun, Umucalilar, Inal & Boydak. 2002).

El efecto beneficioso de la adición de lactosa a las dietas de aves de corral se atribuyó originalmente en parte al aumento de la acidez del contenido cecal resultante de la fermentación de la lactosa, siendo que los autores sugirieron que la lactosa puede aumentar la protección contra la colonización de *Salmonella* mediante el aumento de la producción de AGV bacteriostáticos (Corrier, 1990).

2.2.3 ÓRGANOS LINFOIDES.

El sistema inmune de las aves está conformado por órganos linfoides primarios y secundarios, siendo así que, en el embrión a partir del saco vitelino migran células

indiferenciadas a la médula ósea, el Timo y Bursa, en estos órganos las células se diferencian a linfocitos T o B y posteriormente migran a los órganos linfoides secundarios tales como el bazo, tonsilas cecales, glándula de Harder, tejido linfoide asociado a mucosas, y centros germinales en tejido conectivo (Ledesma, 2014).

- **TIMO.**

Órgano linfoide primario de las aves que se ubica a lo largo del cuello, está compuesto de 6 a 7 lóbulos bien definidos, unidos entre sí que van paralelos a las venas yugulares y el nervio vago (Hodges, 1974; Grossman & Sisson, 1982). En el timo se diferencian los linfocitos T, responsables de la inmunidad celular y de la modulación de la respuesta humoral (Ledesma, 2014). Este órgano presenta una Linfopoyesis independiente de la estimulación antigénica, ya que se produce por mediadores humorales secretados por las células epiteliales, la timosina, sustancia que interviene por ello en la regulación de la respuesta inmune (Qureshi, Hussain, & Heggen, 1998).

Macroscópicamente los lóbulos del timo se aprecian con pequeños lobulillos y al corte se diferencia una corteza y médula (Ridell, 1987). En ausencia de agentes infecciosos o inmunodepresores, el timo debe permanecer hasta las 15 ó 17 semanas, después de ese tiempo inicia su involución de modo que a las 30 semanas quedan únicamente vestigios, este crece rápidamente en el pollo joven y alcanza su tamaño máximo a las 16 semanas de edad, para comenzar su involución al inicio de la pubertad (Hodges, 1974).

- **BOLSA DE FABRICIO.**

La Bolsa de Fabricio o también llamada Bursa es un órgano linfoepitelial propio de las aves, redondeado-oval, con forma de saco, de ubicación dorsal al proctodeo de la cloaca (Grossman & Sisson, 1982), conectada al intestino mediante un ducto que desemboca en el proctodeum (Ledesma, 2014). Al nacimiento del pollo, la Bursa está integrada estructuralmente por pliegues que desembocan en un ducto central o

bursal, este provee comunicación directa entre el lumen de la bursa y el lumen intestinal, lo que permite la captación de antígenos (Verduzco, 2010).

La bursa es el sitio de diferenciación de los linfocitos B y capta antígenos al momento que el ave defeca ya que la capa de músculo liso del intestino se continúa en la bolsa de Fabricio de modo que la contracción del músculo hace funcionar a la bolsa como una perilla de succión (Tizard, 1992). En el interior de la bolsa de Fabricio se aprecian folias mayores y menores, estas folias están recubiertas por un epitelio cilíndrico y contienen los folículos linfoides sostenidos por una matriz de tejido conectivo (Hodges, 1974).

Cada folículo linfoide está conformado por una corteza y médula, separadas por una capa de células cortico medulares que se continúan con las células del epitelio que reviste las folias, en ausencia de agentes infecciosos o inmunodepresores, debe estar presente hasta las 12 ó 14 semanas de vida del ave, tiempo en el cual inicia su involución, de modo que a las 20 semanas únicamente quedan vestigios (Ledesma, 2016).

La principal función de la bolsa de Fabricio es la maduración y diferenciación de los linfocitos B, los cuales son enviados a los tejidos linfoides periféricos donde producirán inmunoglobulinas específicas (Tizard, 1992). Además, la bolsa de Fabricio sirve como órgano linfático secundario, capaz de captar antígenos y efectuar cierta síntesis de anticuerpos (Qureshi, *et al.*, 1998). La importancia que la Bursa tiene en la respuesta inmunológica de las aves es que al ser el principal órgano involucrado en la producción de anticuerpos ya que cuando es afectada causa grados mayores o menores de inmunosupresión. (Torrubia, 2009).

- **Tamaño y peso de la bolsa de Fabricio.**

El tamaño de la Bolsa de Fabricio no posee un tamaño estándar, ya que su crecimiento está directamente influenciado por el ambiente experimental en el que se manejan las aves, así como los tratamientos que se suministren (Thaxton & Siegel, 1972).

En el momento de la eclosión la Bolsa está ya formada y pesa aproximadamente 0.04g (Suárez, 2010). En el período prenatal crece rápidamente y al mes de vida representa el 0,42% del peso corporal, sigue creciendo, pero ya menos rápido hasta los dos meses y medio de vida, a partir de este momento comienza su involución hasta que a los 6 meses de edad completa su involución, estos datos son generales, habiendo variaciones individuales y de especie, esta crece proporcionalmente con el desarrollo del ave hasta su madurez sexual (Ulloa, Wehner & Cubillos, 1999). En las aves reproductoras, el peso del ave es 200 veces más que el peso de la Bolsa. En parrilleros, el peso del ave es 400 veces más que el de la Bolsa de Fabricio (Sellaoui, Alloui, Mehenaoui, & Djaaba, 2012).

- **Desarrollo de la bolsa de Fabricio.**

Cazavan. C. (2015) explica que básicamente, la Bolsa de Fabricio pasa por tres estadios de desarrollo:

1. Fase de crecimiento durante las primeras tres semanas de vida del ave.
2. Una fase de “Plateau” entre la 4a y 8a semanas de edad.
3. Fase de regresión, lenta pero sostenida desde la semana 9 en adelante hasta desaparecer cuando el ave alcanza su madurez sexual.

- **Relación del peso de la bolsa con el peso corporal.**

La relación del peso de la Bolsa de Fabricio con el peso corporal (BF/PC) puede ser correlacionada con inmunosupresión, las aves entre 3 y 6 semanas de edad tienen normalmente un BF/PC de 2 a 4, de 1 o menos de 1 es indicativo de inmunosupresión y se observa en aves clínicamente enfermas y en aves decomisadas en la planta de procesamiento (Giambrone, 1996).

- **BAZO.**

El bazo, el mayor órgano linfóide periférico, de forma redondeada y color café rojizo, se ubica al lado derecho de la unión entre el proventrículo y molleja (Hodges, 1974; Grossman & Sisson, 1982).

En lo que se refiere a las características histológicas, el bazo está compuesto de una pulpa blanca que posee linfocitos pequeños, medianos y grandes rodeados por células reticulares (Hodges, 1974). El tejido linfoide rodea las arterias centrales, formando una vaina linfoide periarterial compuesta por linfocitos T, sin embargo, en distintos lugares de la vaina existen folículos primarios formados por linfocitos B, que en caso de estimulación antigénica van desarrollando centros germinativos, los cuales se transforman en folículos secundarios (Cheville, 1980). Por otra parte, el bazo consta de una pulpa roja que consiste en venas sinuosas y tejido esponjoso que contiene células reticulares, macrófagos, linfocitos y células plasmáticas (Payne & Powell, 1984).

Las funciones de este órgano son captar antígenos circulantes en la sangre, activar los macrófagos y desencadenar la producción de células plasmáticas inespecíficas (Cheville, 1980).

- **ÍNDICES MORFOMÉTRICOS**

El índice peso Bursa/peso corporal (Ibu) es un indicador de inmunocompetencia muy utilizado por su fácil determinación y alta sensibilidad a la hora de monitorear el status inmunológico de una parvada, así mismo como el índice peso Bazo/ Peso corporal (Iba) y el índice de relación entre el peso del Timo y el peso corporal (Iti) son una herramienta útil para determinar la inmunocompetencia de las aves (Perozo, 2004).

El timo, bursa y bazo se pesan en forma individual, luego se calcula la relación entre los órganos linfoides y peso corporal (índices morfométricos) (Grieve, 1991).

$$\text{Indice morfométrico} = \frac{\text{Peso del órgano(gramos)}}{\text{Peso corporal(gramos)}} \times 1000$$

Timo= [Peso timo (g)] / [Peso corporal (g)] x 1000

Bursa= [Peso bursa (g)] / [Peso corporal (g)] x 1000

Bazo= [Peso bazo (g)] / [Peso corporal (g)] x 1000

- **RELACIÓN ENTRE BURSA, BAZO Y TIMO**

Existen una serie de factores del entorno que pueden afectar el tamaño de los órganos linfoides como la genética de las aves, exposición a tóxicos y/o agentes infecciosos, esta relación nos da una idea del desarrollo de un órgano primario al resto de órganos secundarios. Se relaciona la bursa, bazo y timo utilizando las fórmulas propuestas por (Grieve, 1991), donde:

Relación bursa/bazo = Peso bursa (g) / Peso bazo (g).

Relación bursa/timo = Peso bursa (g) / Peso timo (g).

Relación timo/bazo = Peso timo (g) / Peso bazo (g).

La relación entre el tamaño de la bursa y el bazo representa una lectura física de la capacidad de respuesta inmune en pollos de engorde, y esta variable como indicador de la inmunocompetencia de aves vacunadas contra la enfermedad de Gumboro, en una zona caracterizada por la condición endémica de la enfermedad, reportando que índices superiores a 2 pueden ser considerados como propios de una adecuada inmunocompetencia (Pulido *et al.* 2001).

2.2.4 POBLACIÓN MICROBIOTICA CECAL.

El tracto gastrointestinal (TGI) consiste en una comunidad diversa principalmente de bacterias, hongos, protozoos y virus (microbiota intestinal). El desarrollo de esta comunidad se inicia en el nacimiento de las aves, y las bacterias se adquieren del medio ambiente, el alimento y el personal que manipula los pollitos después del nacimiento. Por lo tanto, cada uno de estos tres elementos puede afectar el desarrollo de la microbiota intestinal (Bailey, 2013).

La comunidad bacteriana de la microbiota intestinal forma una barrera protectora que tapiza el intestino, previniendo el crecimiento de bacterias patógenas como la *Salmonella*, el *Campylobacter* y el *Clostridium perfringens*, este principio se conoce comúnmente como exclusión competitiva, esto sugiere que la microbiota comensal (o amigable) domina los sitios de unión en las células intestinales, reduciendo la oportunidad de unión y colonización por parte de patógenos (David, 2004).

Otro mecanismo sugerido es que la microbiota intestinal es capaz de segregar compuestos, incluyendo ácidos grasos volátiles, ácidos orgánicos y compuestos antimicrobianos naturales, que inhiben el crecimiento de bacterias menos favorables o que hacen que el ambiente sea menos apto para éstas (Jaramillo, 2011).

Estudios que utilizan animales libres de gérmenes también han demostrado que la microbiota intestinal es importante en el estímulo y desarrollo del sistema inmunológico. Se cree que la microbiota comensal mantiene el sistema inmunológico intestinal en un estado de “alerta”, de manera que pueda reaccionar rápidamente a los patógenos, también se considera que la microbiota intestinal es un factor importante en el desarrollo y la maduración del sistema inmunológico, se ha demostrado que los animales a los que les falta microbiota intestinal son más susceptibles a enfermedades y tienen tejidos inmunes poco desarrollados, además de la protección contra enfermedades y la estimulación del sistema inmunológico, la microbiota intestinal puede influenciar las tasas de crecimiento del anfitrión mediante la producción de nutrientes adicionales a través de la fermentación de las fibras vegetales indigeribles que las aves no pueden digerir (Bailey, 2013).

- **El Equilibrio de la Salud Intestinal.**

La salud intestinal se basa en el mantenimiento del delicado equilibrio entre el anfitrión, la microbiota intestinal, el ambiente intestinal y los compuestos dietéticos, el manejo de las aves y el medio ambiente pueden afectar significativamente este equilibrio, un desequilibrio en esta relación puede comprometer la salud intestinal, cuando esta es la óptima, se da una eficiente digestión y absorción de los compuestos nutricionales del alimento. Las grasas dietéticas, los azúcares y las proteínas se absorben desde el intestino delgado, y el resto de componentes indigestibles (como las fibras vegetales) pasan a los ciegos, donde las bacterias fermentativas convierten estas fibras en energía adicional para el anfitrión (Bailey, 2013).

Esto se puede deber al aumento de secreción de moco, daño de las vellosidades o secreción de células inmunes en el intestino, la mala absorción de nutrientes resulta en que hay más nutrientes disponibles para las bacterias del intestino delgado, lo que puede ocasionar un crecimiento excesivo de la población bacteriana, adicionalmente,

la mala absorción puede resultar en que proteínas, azúcares y grasas pasen a los ciegos, causando un cambio en la población microbiana, alejándola del ideal de bacterias fermentativas. El equilibrio de la microbiota intestinal se puede impactar por factores (Jaramillo, 2011).

- Períodos de grandes desafíos (por ejemplo, cambios en la alimentación, vacunas).
- Alimento (calidad y materias primas).
- Bioseguridad.
- Medio ambiente (temperatura y ventilación).
- Condiciones de crianza.
- Infecciones con virus, bacterias, o coccidiosis, o presencia de micotoxinas.

A los cambios en las poblaciones bacterianas del intestino delgado y los ciegos que ocurren durante un desequilibrio comúnmente se les llama disbacteriosis y, si son prolongados, pueden producir efectos negativos en el anfitrión, el cambio en actividad bacteriana en los ciegos resulta en la producción de diferentes metabolitos bacterianos (los compuestos que producen las bacterias cuando descomponen los nutrientes), algunos de estos metabolitos, tales como las aminas producidas por el metabolismo de las bacterias o los aminoácidos, pueden causar irritación intestinal, haciendo que el curso del intestino se irrite aún más (Bailey, 2013).

La presencia de ciertas bacterias se incrementa durante la disbacteriosis; la acción de estas bacterias afecta aún más la absorción de nutrientes, por ejemplo, algunas bacterias pueden reducir la absorción de grasa al desactivar los ácidos biliares, los cuales capturan las grasas de la dieta, otras pueden destruir la superficie de las vellosidades, reduciendo el área de la superficie disponible para la absorción de nutrientes (Bailey, 2013).

Cuando se reduce la absorción de nutrientes es común que las aves aumenten su ingesta de alimento intentando satisfacer sus requerimientos nutricionales, esto resulta en un menor tiempo de tránsito intestinal, paso del alimento y una cama más mojada (Jaramillo, 2011).

2.2.5 PLACAS PETRIFILM PARA RECuento DE UNIDADES FORMADORAS DE COLONIAS (UFC)

Placa Petrifilm™ para el Recuento de Enterobacterias: contiene nutrientes del medio violeta rojo bilis glucosa (VRBG) modificado que facilita la enumeración de colonias, las cuales son indicadores de condiciones higiénicas después del procesamiento de alimentos, un colorante indicador en la placa tiñe las colonias de rojo y la capa superior atrapa el gas producido por algunas bacterias (3M, 2008).

Las bacterias que producen gas y/o ácido se consideran presuntivamente como Enterobacterias y al crecer en la placa presentan una de las siguientes características: 1) Colonias asociadas a burbujas de gas y sin zonas ácidas, 2) Colonias con zonas amarillas de ácido y sin producción de gas, 3) Colonias que producen gas y ácido. (3M, 2008).

Las Enterobacterias son de gran importancia, ya que estos organismos están involucrados con la descomposición de alimentos, son indicadores de contaminación fecal y algunas de ellas son consideradas patógenas. Las Placa Petrifilm™ para Recuento de Enterobacterias enumeran a todos los organismos coliformes además de patógenos potenciales como *Salmonella*, *Shigella* y *Yersinia*, entregando de esta manera un panorama más inclusivo de potencial contaminación (3M, 2017).

Placa Petrifilm™ para Recuento de *E. coli* / Coliformes: está compuesta por una lámina de papel con una cuadrícula impresa recubierta de polipropileno conteniendo nutrientes del medio VRBG, el indicador 5-bromo-4-cloro-3-indolilbeta-D-glucurónido (BCIG) y un agente gelificante soluble en agua fría (El área 48 donde se desarrollarán los microorganismos está definida por una película intermedia de espuma), se complementa en la parte superior con otra lámina de polipropileno que contiene gel soluble en agua fría y tricloruro de trifenil tetrazolio (TTC) como indicador (3M, 2008).

La mayoría de las *E.coli* (cerca del 97%) produce beta-glucuronidasa, la que a su vez produce un precipitado azul asociado con la colonia, la película superior atrapa el gas producido por la lactosa que fermentan *E.coli*, cerca del 95% produce gas,

representado por colonias entre azules y rojoazuladas asociadas al gas atrapado, mientras que los Coliformes son colonias rojas asociadas con burbuja de gas (3M, 2008).

Estas placas se incuban por 24 ± 2 horas a 35°C para cuantificar Coliformes y *E. coli* en carne, aves y mariscos y 48 ± 2 horas a 35°C para cuantificar *E. coli* en lácteos (3M, 2006).

2.2.6 POLLOS BROILER (COBB 500).

Considerado como una de las líneas genéticas más eficientes, el pollo Cobb500 tiene la conversión alimenticia más baja, la tasa de crecimiento mejorada y la capacidad de desarrollarse nutricionalmente, además de un precio de producción más bajo, juntas, estas características proporcionan al Cobb500 la ventaja competitiva del menor costo por kilogramo o libra de peso vivo producido para la creciente base de clientes en todo el mundo (Guía de crianza Cobb Vantress, 2016).

Entre tantas ventajas que presenta el pollo Cobb500, tenemos las más representativas:

- Coste más bajo producido.
- Rendimiento superior con raciones de menor costo.
- Mayor eficiencia de las raciones.
- Excelente tasa de crecimiento.
- Mejor uniformidad en el procesamiento del pollo.
- Reproductores competitivos.

CAPÍTULO III

III. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

3.1 HIPÓTESIS:

H_a: La inclusión de polen, lactosa y su combinación, en dietas alimenticias de pollos de engorde durante los primeros catorce días de vida, influyen significativamente sobre los índices morfométricos de órganos inmunes y la población microbiana cecal.

3.2 OBJETIVOS:

3.2.1 Objetivo General.

- Determinar el efecto del polen, lactosa y su combinación en los órganos inmunes y sobre las poblaciones microbianas cecales de pollos de engorde.

3.2.2 Objetivos Específicos.

- Evaluar el nivel de inclusión de polen (0,5%), lactosa (2,5%) y su combinación (polen 0,5%+lactosa 2,5%) en dietas de pollos de engorde.
- Determinar los índices morfométricos y relación entre los órganos linfoides a los 14 días de edad en pollos de engorde.
- Cuantificar la población microbiana cecal (Enterobacterias y *E. coli*), a los 14 días de edad en pollos de engorde.

CAPÍTULO IV

IV. MATERIALES Y MÉTODOS.

4.1 UBICACIÓN DEL EXPERIMENTO.

Este ensayo se realizó en un galpón avícola, ubicado en el sector La Florida, cantón Cevallos de la provincia de Tungurahua, con sus coordenadas geográficas 1°20'16.8"Sur (latitud) 78°36'19.3" Oeste (Longitud), a una altitud de 2 900 msnm, cuyo clima es mesotérmico semihúmedo (Cubillo, 2005).

4.2 CARACTERÍSTICAS DEL LUGAR.

Las condiciones meteorológicas del lugar en donde se realizó el proyecto son las siguientes:

Tabla 1. Condiciones meteorológicas

Parámetros	Promedio
Precipitaciones, mm	145.5 (media trimestral)
Humedad relativa, %	75 (media)
Viento, km/h	10
Temperatura, °C	13 (media)

Fuente: INAMHI (2017).

4.3 EQUIPOS Y MATERIALES.

4.3.1. De campo

- Aves (Cobb 500).
- Vacunas. (Bronquitis, Newcastle)
- Bebederos.
- Comederos.
- Tamo de arroz.
- Cortinas de lona.

- Criadora.
- Galpón.
- Tanque de gas.
- Termómetro.
- Tanques reservorio de 50 lts.
- Desinfectantes (detergente, yodo, amonio cuaternario).

4.3.2. De laboratorio

- Equipo de disección.
- Balanza analítica (cap. 200g; 0,01g).
- Balanza (cap. 5kg; 1g)
- Placas petrifilm 3M, para enterobacterias,
- Placas petrifilm 3M, para *E. coli*

4.3.3. Aditivos

- Polen.
- Lactosa.

4.4 FACTORES EN ESTUDIO.

- **T0:** 0% de polen y 0% lactosa, polen/lactosa.
- **T1:** 0,5% de polen.
- **T2:** 2,5% de lactosa.
- **T3:** 0,5% de polen+2,5% de lactosa.

En dietas alimenticias de pollos de engorde (Cob500)

4.5 TRATAMIENTOS.

Tabla 2. Distribución de tratamientos

Tratamientos	Repeticiones	Nº Animal / Repetición	Animales / Tratamiento
T0: (0% de polen y 0% lactosa)	10	1	10
T1: (0,5% de polen)	10	1	10
T2: (2,5% de lactosa)	10	1	10
T3: (0,5% de polen + 2,5% de lactosa)	10	1	10
Total de animales			40

4.6 DISEÑO EXPERIMENTAL.

En la presente investigación se utilizó el Diseño Completamente al Azar (DCA), con 3 tratamientos (T1, T2 y T3) y un testigo (T0) y con 10 repeticiones. Se realizó el análisis de varianza, ADEVA y la dócima de Tukey al 5%.

4.7 MANEJO DEL EXPERIMENTO.

4.7.1. Manejo de Campo.

Adecuación de las instalaciones.

- Se realizó la limpieza y desinfección del galpón y equipos a fondo.
- Se construyeron 40 unidades experimentales de 1 x 0,9 m, las que fueron debidamente etiquetadas.
- Se adecuó las camas con tamo de arroz.

- Se realizó la instalación de criadoras y cortinas para mantener temperatura, humedad y calidad de aire controlados y constantes.
- Para recibir los pollitos se mantuvo una temperatura media de 32°C y gradualmente se redujo hasta llegar 20°C a los 42 días.
- Se realizó el equipamiento de cada unidad experimental con bebedero y comedero independiente.
- La administración del alimento durante las etapas pre inicial (0-7 días) e inicial (8-14 días) fue ad libitum.

4.7.2. Manejo de Laboratorio.

Índices Morfométricos, Relación de Órganos Inmunes y Unidades Formadoras de Colonias

- **Índices Morfométricos y Relación de Órganos Inmunes**

De cada ave experimental, sacrificada, se obtuvo por necropsia, el timo, el bazo y la bursa (órganos completos), los que previa eliminación del tejido graso, fueron pesados en forma individual en una balanza de precisión.

Para cada ave experimental, se calculó la relación entre el peso de los órganos linfoides y el peso corporal (índices morfométricos) y la relación entre Bursa, Bazo y Timo, utilizando las formulas propuestas por Grieve. B. (1991).

Para calcular el índice morfométrico se utilizaron los pesos obtenidos de los órganos, Timo, Bursa y Bazo los cuales se dividieron para el peso corporal del ave y se multiplicó por 1000, obteniendo el índice morfométrico (%) de los órganos en estudio.

$$\text{Indice morfométrico} = \frac{\text{Peso del órgano(gramos)}}{\text{Peso corporal(gramos)}} \times 1000$$

Para estudiar la relación entre los órganos, timo, bolsa de Fabricio, bazo, se procedió a obtener los pesos de los órganos y dividirlos entre sí, para obtener su relación.

$$\text{Relación entre órganos} = \frac{\text{Peso del órgano 1(gramos)}}{\text{Peso del órgano 2(gramos)}}$$

- **Unidades Formadoras de Colonias (UFC).**

Preparación de la muestra.

- Se pesó 1g de contenido cecal junto con una porción del ciego (Punina, 2017).
- Se preparó una dilución de 1:10 de la muestra del ciego.
- Se colocó en el tubo de ensayo y se homogenizó
- Se dejó reposar la dilución durante 5 min.

Inoculación.

- Se tomó el sobrenadante de la dilución en reposo.
- Se tomó 1cm³ del sobrenadante.
- Con la pipeta perpendicular a la placa petrifilm, se colocó 1cm³ del sobrenadante en el centro del film inferior.
- Se bajó cuidadosamente el film superior evitando el atrapamiento de burbujas de aire.
- Se colocó el difusor plano (aplicar para alta sensibilidad) con el lado plano hacia la placa en el film superior sobre el inóculo. Distribuir la muestra ejerciendo una leve presión sobre el mango del aplicador.
- Se levantó el aplicador y se esperó 5 minutos hasta que el gel se solidificó.

Incubación:

- Se colocó en la incubadora no más de 10 placas con el lado claro hacia arriba, durante 24 horas a 37 °C.
- Se utilizó un contador de colonias y se cuantificó las colonias rojas con gas o sin gas (coliformes), las enterobacterias producen colonias rojas con zonas ácidas de color amarillo. (Torres, 2003).

4.8 VARIABLES RESPUESTA.

4.8.1 Índices Morfométricos de los órganos linfoides.

- I.M Bursa, g/g
- I.M Bazo, g/g
- I.M Timo, g/g

4.8.2 Relación entre los órganos.

- Relación bursa/bazo, g/g
- Relación bursa/timo, g/g
- Relación timo/bazo, g/g

4.8.3 Unidades Formadoras de Colonias.

- *E. coli*, UFC/g
- Enterobacterias, UFC/g

4.9 PROCESAMIENTO DE LA INFORMACIÓN.

El programa estadístico utilizado para el procesamiento de la información fue SAS (SAS University Edition 2016). Los resultados de morfometría de órganos linfoides y su relación se procesaron a través del procedimiento GLM (Generalized Linear Models) y para el conteo de UFC en bacterias se utilizó el procedimiento GLIMMIX (General Linear Mixed Models)

CAPÍTULO V

V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1 RESULTADOS

5.1.1 ÍNDICES MORFOMÉTRICOS DE LA BURSA, BAZO Y TIMO DE LOS POLLOS DE ENGORDE.

Tabla 3. Resumen ADEVA y Tukey para Índices Morfométricos de los Órganos Linfoides.

INDICES	T0	T1	T2	T3	E.E	P-VALOR
I.M. ¹ BURSA, g/g	1.76b	2.41a	2.00ab	2.07ab	0.127	0.0199
I.M. BAZO, g/g	0.76	0.82	0.78	0.82	0.062	0.8808
I.M. TIMO, g/g	3.25	4.15	3.68	3.60	0.283	0.2097

^{a,b} Medias con letras diferentes entre filas difieren significativamente ($P < 0.05$). T0: control (0% polen+ 0% lactosa), T1: dieta + polen (0,5%), T2: dieta + Lactosa (2,5%), T3: dieta + polen (0,5%) + lactosa (2,5%). E.E: Error estándar. I.M.¹: índices morfométricos.

Dentro del estudio de los Índices Morfométricos se encontró diferencias significativas entre las medias de los tratamientos en el I.M. Bursa ($P=0.0199$), donde el mejor tratamiento fue T1 (0,5% polen). En el caso de I.M. Bazo e I.M. Timo, no se observaron diferencias estadísticas significativas entre las medias de los tratamientos ($P > 0,05$); sin embargo, hay que recalcar que para I.M. Bazo comparten valores entre el T1 (0,5% polen) y T3 (0,5% polen+ 2,5% lactosa); a su vez para I.M. Timo se observó que el mejor tratamiento fue para T1 (0,5% polen)

5.1.2 RELACION ENTRE LA BURSA, BAZO Y TIMO DE LOS POLLOS DE ENGORDE.

Tabla 4. Resumen ADEVA y Tukey para Relaciones entre Órganos Linfoides

RELACIÓN	T0	T1	T2	T3	E.E	P-VALOR
BURSA/BAZO, g/g	2.35	2.93	2.59	2.63	0.251	0.4667
BURSA/ TIMO, g/g	0.56	0.58	0.56	0.57	0.055	0.9922
TIMO/BAZO, g/g	4.22	5.04	4.72	4.59	0.358	0.4691

T0: control (0% polen+ 0% lactosa), T1: dieta + polen (0,5%), T2: dieta + Lactosa (2,5%), T3: dieta + polen (0,5%) + lactosa (2,5%). E.E: Error estándar.

En mención a las Relaciones entre Bursa/Bazo, Bursa/Timo y Timo/Bazo, no se encontró diferencia estadística para ningún tratamiento ($P>0,05$), manteniéndose matemáticamente el T1 (0,5% polen) como mejor tratamiento para los tres casos.

5.1.3 UNIDADES FORMADORAS DE COLONIAS.

Tabla 5. Resumen ADEVA y prueba de Tukey para UFC de enterobacterias

		T0	T1	T2	T3	E.E	p-valor
Enterobacterias	UFC ¹ /g	12.00b	8.60b	3.40a	4.00a	1.097	0.0001

^{a,b} Medias con letras diferentes entre filas difieren significativamente ($P<0.05$). T0: control (0% polen+ 0% lactosa), T1: dieta + polen (0,5%), T2: dieta + Lactosa (2,5%), T3: dieta + polen (0,5%) + lactosa (2,5%). UFC¹: unidades formadoras de colonias,

Dentro del análisis estadístico de UFC de Enterobacterias al comparar los tratamientos se puede deducir que existe diferencias estadísticas entre las medias de los tratamientos ($P<0.05$), siendo así que el mejor tratamiento fue para T2 (2,5% lactosa), que comparte significancia con T3 (0,5% polen+2,5% lactosa), difiriendo de T0 (0% polen+0% lactosa) y T1 (0,5% polen).

Tabla 6. Resumen ADEVA y prueba de Tukey para UFC de *E. coli*.

		T0	T1	T2	T3	E.E	p-valor
<i>E. coli</i>	UFC/g	8.80b	2.60 ^a	1.20a	1.20a	0.412	0.0001

a,b Medias con letras diferentes entre filas difieren significativamente ($P<0.05$). T0: control (0% polen+ 0% lactosa), T1: dieta + polen (0,5%), T2: dieta + Lactosa (2,5%), T3: dieta + polen (0,5%) + lactosa (2,5%). UFC¹: unidades formadoras de colonias,

En el caso de UFC de *Escherichia coli* al comparar los tratamientos, se observó significancia estadística entre tratamientos ($P<0.05$) en T2 (2,5% lactosa) y T3 (0,5% polen+2,5% lactosa), compartiendo significancia con T1 (0,5% polen). y difiriendo T0 (testigo),

5.2 DISCUSIÓN

En el estudio de los Índices Morfométricos en el caso de I.M. Bursa, se encontró diferencias significativas entre las medias de los tratamientos ($P=0.0199$), obteniendo

los mejores resultados en los tres tratamientos con T1 (polen 0,5%), estos resultados corroboran la investigación de Cheng, (2009) donde al utilizar polen de abeja a nivel de 0.5%, 1% y 1.5% se obtuvo un índice de Bursa más alto que del grupo de control ($P < 0,05$) siendo así que Giambrone (1996) menciona que el I.M.Bursa puede ser correlacionado con inmunosupresión cuando este presenta valores de 1 o menores a 1, siendo lo normal un rango de 2 a 4 en aves de 3 a 6 semanas; mientras que en I.M del Bazo y el Timo no se observó significancia ($P > 0,05$). Lo que corrobora el estudio de Caicedo, (2018) donde el T2 (0,5% polen) obtuvo una mortalidad de 0% en comparación para los otros tratamientos, demostrando la inmunocompetencia de las aves.

Referente a la relación entre los órganos linfoides, los resultados determinaron que no existe significancia entre las diferentes relaciones, destacando el tratamiento T1 (polen 0,5%) con valores de relación Bursa/Bazo (2,93), Bursa/Timo (0,58, timo/bazo (5,04), Pulido *et al.*, (2001), señaló a la relación Bursa/Bazo es un indicador de inmunocompetencia en aves, reportando que índices con un valor superior a 2 pueden ser considerados como propios de un ave sana, durante nuestra investigación, el índice de Bursa/Bazo obtuvo valores superiores a 2, indicando que la Bursa tuvo un peso promedio mayor que el bazo; la razón timo/bazo indica que el tamaño del Timo fue superior al del bazo, lo que concuerda con resultados obtenidos por Perozo, *et al.*, (2004), mencionando que un adecuado desarrollo del timo es compatible con un ave sana. Siendo así que la dieta suplementada con polen de abeja estimula el desarrollo temprano de la Bursa, llegando a retardar la degeneración de la Bursa y promoviendo la respuesta inmune del Bazo (Wang, *et al.*, 2005).

En cuanto a UFC de Enterobacterias se observó una disminución considerable en los individuos tratados con T2 (lactosa 2,5%) seguido de T3 (polen 0,5% + lactosa 2,5%), los cuales difieren significativamente frente a los resultados obtenidos en los individuos sometidos a T0 (control) y T1 (polen 0,5%) mientras que para las UFC de *E. coli* se encontró que tanto el tratamiento T2 (lactosa 2,5%) y T3 (polen 0,5% + lactosa 2,5%) actuaron de manera similar en comparación para T0 (testigo) y T1 (polen 0,5%). Estos resultados se pueden contrastar con los datos obtenidos en el estudio de Hinton, *et al.*, (1991), en el cual se implementó lactosa (2,5%) a la dieta de las aves y se verificó una reducción logarítmica en el número de UFC de *S.*

typhimurium recuperado de los ciegos de los pollos. Así mismo se apreció una disminución en las poblaciones cecales de *E. coli* después de haber sido administrado el prebiótico lactosa (5g/kg o 10g/kg) en pollos de 21 días de edad Mookiah *et al.*, (2014). Cabe mencionar que a diferencia del estudio de Hinton, *et al.*, (1991) no se detectó *Salmonella* en el contenido cecal de los pollos a los 21 y 42 días de edad. Esto se debe a que la lactosa disminuyó el pH del contenido cecal y se acompañó de un marcado aumento de las concentraciones de ácidos grasos volátiles no disociados en el contenido cecal (Corrier, *et al.*, 1990), de igual forma en la investigación realizada por Haščík, *et al.*, (2015), Corrier (1991) & Dean (2008) quienes usaron lactosa a concentraciones de 1%, 2,5% y 2% respectivamente, se observó un descenso de pH en ciegos de pollos de engorde. Lo que corrobora los resultados obtenidos por Caicedo (2018) al tener un pH de 5,9 en ciegos con T3 (lactosa 2,5%), lo cual favoreció el incremento de las bacterias acidolácticas y a su vez una disminución en el número de bacterias patógenas como son las Enterobacterias y *E. coli* estudiadas en esta investigación.

CAPITULO VI

VI. CONCLUSIONES, BIBLIOGRAFÍA Y ANEXOS

6.1 CONCLUSIONES.

La administración de polen (0,5%), lactosa (2,5%) y su combinación polen (0,5%) + lactosa (2,5%) en dietas alimenticias por 14 días en pollos de engorde, influyó de manera positiva sobre los índices estudiados.

La adición de 0,5% de polen (T1) en dietas alimenticias en pollos de engorde, mejoró los índices morfométricos de la bursa; Así mismo, aunque no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos; existe diferencia en T1 en la relación de los órganos linfoides (bursa, bazo y timo).

Las poblaciones microbianas patógenas cecales enterobacterias, disminuyeron notablemente con el tratamiento T2 (2,5% de lactosa) ($P < 0,05$); mientras que en *E. coli* actuaron de igual manera el T2 (2,5% de lactosa) y T3 (0,5% de polen+2,5% de lactosa) en ciegos.

6.2 BIBLIOGRAFÍA.

- 3M. (2017). Placa Petrifilm^{MR} para Recuento de Enterobacteriaceae. Ficha Técnica. Obtenido de: <https://es.slideshare.net/egrandam/cartilla-de-enterobacterias-petrifilm>
- 3M. (2008) Placa Petrifilm^{MR} para Recuento de *E. coli*. Ficha Técnica. Obtenido de: <https://multimedia.3m.com/mws/media/4449500/3m-petrifilm-e-coli-coliform-count-plate-interpretation-guide-spanish.pdf>
- Alais, C. (1985). Ciencia de la leche: principios de técnica lechera. Reverté. España
- Attia, Y.A., Al-Hanoun, A.M., Bovera, F. (2011). Effect of different levels of bee pollen on performance and blood profile of New Zealand White bucks and

- growth performance of their offspring during summer and winter months. *J. Anim. Phys. Anim. Nutr.* Pág 17–26.
- Arteaga, V., & Jauregui, D. J. (2016). El propóleo en la morfometría linfoidea y control bacteriano en pollos camperos. *Axioma*(15), 16-25.
- Bailey. R. (2013). Salud Intestinal en Aves Domésticas- El Mundo Interno. Aviagen. Obtenido de: http://es.aviagen.com/assets/Tech_Center/BB_Foreign_Language_Docs/Spanish_TechDocs/AviagenBriefGutHealth2013-ES.pdf
- Biosacolombia. (2016). Biosa Colombia S.A. Recuperado de: <https://www.biosacolombia.com/vita-biosa/>
- Caicedo, G. F. (2018). Efecto del polen, lactosa y su combinación sobre los parámetros productivos y digestivos en pollos de engorde (Bachelor's thesis). Universidad Técnica de Ambato, Cevallos, Ecuador.
- Carpes ST, Prado A, Moreno IAM, Mourão GB, Alencar SM, Masson ML.(2008) Evaluación potencial antioxidante de polen de abeja producida en el sur de Brasil. Nueva Química. Obtenido de: file:///C:/Users/Carlos/Downloads/art_PRADO_Avaliacao_do_potencial_antioxidante_do_polen_apicola_2008.pt.es.pdf
- Carvajal, L. (2016). Efecto Del Consumo De Propóleo Sobre Parámetros Zootécnicos En Pollos De Engorde En El Municipio De Fusagasugá. Trabajo de Grado. Universidad de Cundinamarca. Obtenido de: <http://dspace.unicundi.edu.co:8080/xmlui/handle/123456789/203>
- Cazavan. C. (2015). La Bolsa de Fabricio como Indicador Visual. México. Revista Los Avicultores y su Entorno Vol. No. 104. pp. 44-48. Obtenido en: <http://bmeditores.mx/bolsa-fabricio-como-indicador-visual/>
- Cheville NF (1980) Patología celular. Ed. Acribia, Zaragoza (Spain), 521 pp
- Cobb Vantress. (2016). Guía de crianza Cobb500. Obtenido en: <http://www.pronavicola.com/contenido/manuales/Cobb.pdf>
- CONAVE. (2015). Latinoamérica y el Caribe: Consumo per cápita de carne de pollo (kg/año). Obtenido en: <http://www.avicolatina.com/estadisticas/pollo/consumo>
- Corrier, D. E., Hinton Jr, A., Ziprin, R. L., & DeLoach, J. R. (1990). Effect of dietary lactose on Salmonella colonization of market-age broiler chickens. *Avian diseases*, 668-676.

- Cortés, L. S. y Villamarín, S. C. (2013). Características morfo-métricas de órganos linfoides y estudios serológicos en levante de ponedoras utilizando un inmunoestimulador, vitaminas y aminoácidos. *Spel Domus*; 9(18): 29-36.
- Cubillo, P. (2005). Diagnóstico del cantón Quero. Trabajo de Grado. Universidad Técnica de Ambato. Abato-Ecuador. Obtenido de: <http://repositorio.espe.edu.ec/bitstream/21000/722/3/T-ESPE-025114-3.pdf>
- David, M. (2004). Evaluacion del probiotico mananos oligosacaridos, antibiotico florfenicol y el promotor de crecimiento en el alimento para la crianza de pollos broiler en la ciudad de Ibarra. Ibarra-Ecuador. PUCE-SI.
- Diarra, M.S., Fred, G.S., Fatoumata, D., Jane, P., Luke, M., Roland, B., Claudie, B., Pascal, D., Susan, B., Brent, J.S., Edward, T. (2007). Impact of feed supplementation with antimicrobial agents on growth performance of broiler chickens, *Clostridium perfringens* and *Enterococcus* counts, and antibiotic resistance phenotypes and distribution of antimicrobial resistance determinants in *Escherichia coli* isolates. *Am. Soc. Microbiol.* Pág 6566–6576.
- Errecart, V. (2014). Análisis Del Mercado Mundial de Carnes. *Cere*, 1, 35.
- Escobar Aguilar, P. M. (2018). Efecto de polen, lactosa y su combinación sobre la digestibilidad e integridad de la mucosa en pollos Broiler (Bachelor's thesis). Universidad Técnica de Ambato, Cevallos, Ecuador.
- Giambrone, J.J. 1996. Inmunosupresion Causas y Prevención .Avicultura Profesional.PDF. Editorial Antártica S.A. Santiago – Chile. Volumen 14, Número 5 pp. 42 –45.
- Grieve, D.B. (1991). Inmunología aviar y aplicaciones prácticas: Las causas y evaluación de la inmunosupresión. En: Décimo Segundo Congreso Latinoamericano de Avicultura, Quito, Ecuador, pp. 1-16.
- Grossman, J. D., & Sisson, S. (2000). Anatomía de los animales domésticos. Salvat.
- Gülşen, N., Coşkun, B., Umucalilar, H. D., Inal, F., & Boydak, M. (2002). Effect of lactose and dried whey supplementation on growth performance and histology of the immune system in broilers. *Archives of Animal Nutrition*, 56(2), 131-139.
- Haščík, Peter. Ibrahim Omer, ElaminElimam, JozefGarlík, MiroslavaKačániová, JurajČuboň, Marek Bobko, K. V. (2013). The effect of bee pollen as dietary supplement on meat chemical composition for broiler ross 308. *Acta*

- Universitatis Agriculturae Et Silviculturae Mendelianae Brunensis, LXI (December 3, 2012), 71–76. Disponible en: https://www.researchgate.net/profile/Ibrahim_Elimam/publication/257306378_actaun201361010071/links/0c960524d97fadfffb000000.pdf
- Hernández, A. G., Suárez, A. R., & Portal, L. P. (2012). Artículo original, 22(1), 86–97.
- Hinton, A., Corrier, D. E., Ziprin, R. L., Spates, G. E., & DeLoach, J. R. (1991). Comparison of the efficacy of cultures of cecal anaerobes as inocula to reduce *Salmonella typhimurium* colonization in chicks with or without dietary lactose. *Poultry science*, 70(1), 67-73.
- Hodges, R.D. (1974). The histology of the fowl. Academic Press. London.
- Hume, E. M., Kubena, L. F., Beier, R. C., Hinton, Jr, A., Corrier, D. E. and DeLoach, J.R. (1992) Fermentation of Lactose in broiler chicks by cecal anaerobes. *Poult. Sci.*, 71, 1464–1470.
- Jaramillo, A. (2011). Evaluación de la mezcla de un prebiótico y un ácido orgánico en la salud intestinal y parámetros productivos de pollos de engorde. *Rev Colombiana de Ciencia Animal*, 5(1), 52-66.
- Knarreborg A., Simon M. A., Engberg R. M., Jensen B. B., Tannock G. W. (2002). Effects of dietary fat source and subtherapeutic levels of antibiotic on the bacterial community in the ileum of broiler chickens at various ages. *Appl. Environ. Microbiol.* 68, 5918–5924
- Laurencio. M. (2008). La microbiota del tracto gastrointestinal de las aves y su contribución al mantenimiento de la eubiosis de este ecosistema. Monografía. Universidad de Matanzas. Cuba. Obtenido en: <http://monografias.umcc.cu/monos/2008/Agronomia/m0818.pdf>
- Ledesma. N. (2014). Fisiopatología del Sistema Linfoide de las Aves. México. UNAM. Revista Los Avicultores y su Entorno Vol. No. 76. Obtenido en: http://www.produccion-animal.com.ar/produccion_aves/72-Diagnostico_Inmunodepresion.pdf
- Lee, S., Jung R., Houde B., Baurhoo X., Z. B. H. (2008). Effects of Galacto-Oligosaccharides and a Bifidobacteria lactis-Based Probiotic Strain on the Growth Performance and Fecal Microflora of Broiler Chickens. *Poultry Science*, 87(9), 1694–1699.

- Monroy, M. M., Barrera, T, Perrino, F, & Reyes, L. (2009). Revisión bibliográfica: Bacteriocinas producidas por bacterias probióticas. 73, 63-72. Obtenido de: https://www.researchgate.net/profile/Francisco_Fernandez22/publication/228663316_Revision_bibliografica_Bacteriocinas_producidas_por_bacterias_probioticas/links/546e66c20cf2b5fc17607619.pdf
- Mookiah, S., Sieo, S., Chin. C., Ramasamy, K., Abdullah, N., & Ho, Y. (2014). Effects of dietary prebiotics, probiotic and synbiotics on performance, caecal bacterial populations and caecal fermentation concentrations of broiler chickens. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 94(2), 341-348.
- Neves. L, Alencar. M, Carpes. T. 2009. Determinação da atividade antioxidante e do teor de compostos fenólicos e flavonóides totais em amostras de pólen apícola de *Apis mellifera*. *Braz J Food Technol*; (12):107-110. Obtenido de <http://cienciaspecuarias.inifap.gob.mx/index.php/Pecuarias/article/download/4090/3400>
- Nico, C., & Davies, A. (2013). Revisión del Desarrollo Avícola. Revisión del desarrollo avícola. Obtenido de <http://www.fao.org/docrep/019/i3531s/i3531s.pdf>
- Nisbet, D. J., Corrier, D. E., & DeLoach, J. R. (2015). Effect of mixed cecal microflora maintained in continuous culture and of dietary lactose on *Salmonella typhimurium* colonization in broiler chicks. *Avian Diseases*, 37(2), 528–535.
- Oliveira. M. Loch. C. Silva. D. (2015). Uso del polen de abeja en la alimentación de pollos de engorda. *Rev Mex Cienc Pecu.*, 6(3): 273-276.
- Payne. L, Powell. P, (1984). The Lymphoid System. In: *The Physiology and Biochemistry of the Fowl*. vol. 5. Edited by B.M. Freeman. Academic Press, London. pp. 277-321.
- Pérez, J. (15 de marzo de 2015). En ocho provincias se concentra el mayor consumo de cárnicos. Líderes. Recuperdo de: <http://www.revistalideres.ec/lideres/consumo-carnicos-ecuador.html>
- Perozo-Marín, F., Nava, J., Mavárez, Y., Arenas, E., Serje, P., & Briceño, M. (2004). Caracterización morfométrica de los órganos linfoides en pollos de engorde de la línea ross criados bajo condiciones de campo en el estado zulía, venezuela. *Fcv-luz*, Vol. XIV(Nº 3), 217-225.

- Potschinkova, P. (2004). Apiterapia: la fuerza curativa de la miel (No. 638.1 P864a). Arkano Books,.
- Pulido, M; Barcelo, S; Perera, C. (2001). Relaciones entre algunos de los indicadores morfométricos de los órganos linfoides y la inmunocompetencia en pollos. *Rev. Cubana de Ciencia Avícola* 25(1), 45-50.
- Quiroga. P, Atxaerandio. R, Ruiz. R & Garcia. A. (2015). Suplementación con lactosuero en polvo y concentrado protéico de lactosuero en dietas de iniciación de broilers: efectos sobre el rendimiento productivo. Departamento de Producción Animal. AIDA. Obtenido de. http://www.aida-itea.org/aida-itea/files/jornadas/2015/comunicaciones/2015_NyA_47.pdf
- Qureshi, M, Hussain, I, & Heggen, C. (1998). Understanding immunology in disease development and control. *Poultry science*, 77(8), 1126-1129.
- Revuelta. M. (2014). Manejo de la microflora de la gallina ponedora. *Revista Lallemand*. pp. 11-15. Obtenido de: <http://seleccionesavicolas.com/avicultura/2014/1/manejo-de-la-microflora-de-la-gallina-ponedora>
- Ridell. C. (1987). Avian histopathology. 1st ed. American Association of the Avian Pathologist. Pennsylvania.
- Sellaoui, S., Alloui, N., Mehenaoui, S., & Djaaba, S. (2012). Evaluation of size and lesion scores of bursa cloacae in broiler flocks in Algeria. *J. World's Poult. Res*, 2, 37-39.
- Sun Y, Wang MJ, Bu SJ. (2013). Effect of bee pollen on the development of digestive gland of broilers. *China Anim Husband Vet Med*;(37):14-17.
- Suárez. N. (2010). Caracterización del desarrollo de la bolsa de Fabricio en pollos de engorde. Trabajo de Grado. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. U.A.G.R.M. Bolivia. Obtenido de: http://www.fcv.uagrm.edu.bo/sistemabibliotecario/doc_tesis/SUAREZ%20VERONICA-20101122-104235.pdf
- Tafúr, J. D., Tórres, J. A., & Villegas, M. V. (Julio de 2008). Mecanismo de resistencia a los antibioticos en bacterias Gram negativas. *Infectio*, 12(3), 227-232. Obtenido de http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0123-93922008000300007&lng=en&nrm=iso&tlng=es

- Thaxton, P., & Siegel, H. S. (1970). Immunodepression in young chickens by high environmental temperature. *Poultry Science*, 49(1), 202-205.
- Tizard, I. 1992. Inmunología veterinaria. 4a ed. Nueva Editorial Interamericana, México.
- Torres, C., & Zarazaga, M. (2002). Antibióticos como promotores del crecimiento en animales:¿Vamos por el buen camino?. Obtenido de: <https://www.scielosp.org/pdf/gs/2002.v16n2/109-112/es>
- Torrubia, J. (2009). Evolución del tamaño de la bolsa de fabricio. Selecciones avícolas, 26-28.
- Ulloa, J., Wehner, R., & Cubillos, V. (1999). Caracterización del desarrollo de la Bolsa de Fabricio, timo y bazo en pollos broilers comerciales. In XVI Congreso Latinoamericano de Avicultura. Lima.
- Verduzco. G. (2010). El sistema inmune digestivo en las aves. México. Redalyc. Revista Investigación y Ciencia. 18(48):9-16.
- Versteegh, H. A. J. and Jongbloed, A. W. (1999) Lactic acid has a positive effect on broilers performance. *World Poult.*, Pág 16–17.
- Wang. J. Jin. G. Zheng. Y. Li. S. Wang H. (2005). Effect of bee pollen on development of immune organ of animal. China .China Journal of Chinese Materia Medica. 30(19): 1532-1536.
- Yu-xin, Cheng. (2009). Effect of bee pollen on the growth of immune organs of miscellaneous broilers. *Animal Husbandry and Feed Science*, 1, 013
- Ziprin RL , Elissalde MH , Hinton A Jr , Beier RC , Spates GE , Corrier DE , Benoit TG , DeLoach JR . (1991). Colonization control of lactose-fermenting *Salmonella typhimurium* in young broiler chickens by use of dietary lactose. *American Journal of Veterinary Research*. 52(6): 833-837.

6.3 ANEXOS

Anexo 1. Adecuación del galpón.



Anexo 2. Elaboración de los tratamientos.



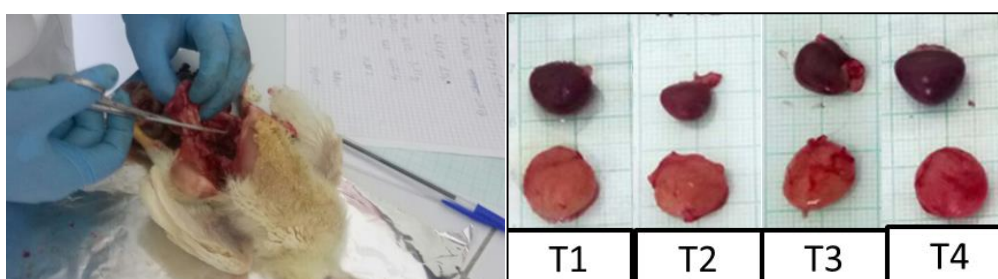
Anexo 3. Recepción de los pollitos bb y distribución por tratamientos



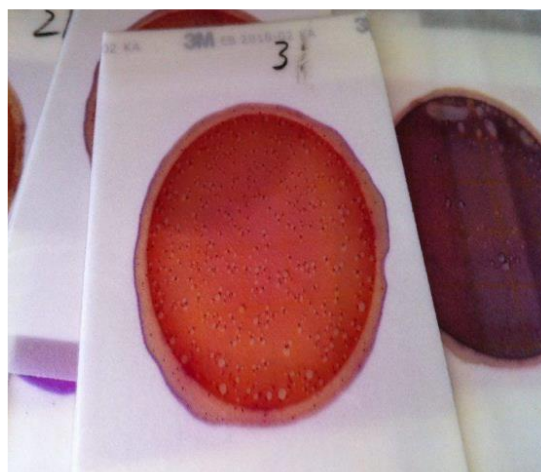
Anexo 4. Captura de los pollos que fueron utilizados para medición de parámetros morfológicos.



Anexo 5. Toma de datos de parámetros morfométricos.



Anexo 6. Recuento de UFC en placas petrífilm



Anexo 7. Índice Morfométrico de la Bursa.

	GI	SC	CM	F	P- valor
Modelo	3	1.0610	0.3536	4.36	0.0199
Error	12	1.2966	0.0810		
Total	15	2.3577			

Anexo 8. Índice Morfométrico del Bazo

	GI	SC	CM	F	P- valor
Modelo	3	0.0129	0.0043	0.22	0.8808
Error	12	0.3135	0.0195		
Total	15	0.3264			

Anexo 9. Índice Morfométrico del Timo

	GI	SC	CM	F	P- valor
Modelo	3	2.0323	0.6774	1.69	0.2097
Error	12	6.4227	0.4014		
Total	15	8.4551			

Anexo 10. Prueba de Tukey en Índices morfométricos de la bursa, bazo y timo de los pollos de engorde.

Índice Morfométrico de la Bursa				Índice Morfométrico del Bazo				Índice Morfométrico del Timo			
TTO	Medias			TTO	Medias			TTO	Medias		
2	2,4101	A		2	0,82360	A		2	4,1508	A	
4	2,0732	A	B	4	0,82345	A		3	3,6806	A	
3	2,0026	A	B	3	0,78606	A		4	3,6068	A	
1	1,7664		B	1	0,76404	A		1	3,2562	A	

Anexo 11. Relación Bursa/Bazo.

	Gl	SC	CM	F	P- valor
Modelo	3	0.8479	0.2826	0.89	0.4667
Error	12	5.0714	0.3169		
Total	15	5.919			

Anexo 12. Relación Bursa/Timo.

	Gl	SC	CM	F	P- valor
Modelo	3	0.0014	0.0004	0.03	0.9922
Error	12	0.2431	0.0151		
Total	15	0.2445			

Anexo 13. Relación Timo/Bazo.

	Gl	SC	CM	F	P- valor
Modelo	3	1.7112	0.5704	0.89	0.4691
Error	12	10.2948	0.6434		
Total	15	12.0061			

Anexo 14. Prueba de Tukey en relaciones entre la bursa, bazo y timo de los pollos de engorde.

Relación Bursa/Bazo			Relación Bursa/Timo			Relación Timo/Bazo		
TTO	Medias		TTO	Medias		TTO	Medias	
2	2,9388	A	2	0,58415	A	2	5,0415	A
4	2,6352	A	4	0,57393	A	3	4,7212	A
3	2,5976	A	1	0,56865	A	4	4,5906	A
1	2,3595	A	3	0,56086	A	1	4,2252	A

Anexo 15. UFC de Enterobacterias.

	GI	SC	CM	F	P-valor
Modelo	3	247.6000	82.5333	13.70	0.0001
Error	12	96.4000	6.0250		
Total	15	344.0000			

Anexo 16. UFC *Escherichia coli*.

	GI	SC	CM	F	P-valor
Modelo	3	344.0000	65.39	77.39	>0.0001
Error	12	13.6000	0.85		
Total	15	210.9500			

Anexo 17. Prueba de Tukey para UFC de bacterias en ciegos de pollos.

UFC/g Enterobacterias			UFC/g <i>E. coli</i> .		
TTO	Medias		TTO	Medias	
2	3.40	A	2	1.20	A
3	4.00	A	3	1.20	A
1	8.60	B	1	2.60	A
0	12.00	B	0	8.80	B

Anexo 18. Dietas para la etapa Pre-Inicial.

INGREDIENTES	T0	T1	T2	T3
	0%P.A+0%L	0,5%P.A	2,5%L	0,5%P.A+2,5%L
Maíz	49,80	49,40	44,00	44,80
Trigo	10,00	10,00	10,00	10,00
Afrecho de trigo	0,00	0,00	1,90	0,80
Torta de soya	0,36	35,50	36,00	36,00
Aceite de palma	0,60	0,50	1,60	1,30
Aceite de girasol	0,40	0,40	0,30	0,40
Carbonato de calcio	1,30	1,20	1,20	1,20
Fosfato monocalcico	1,10	1,00	1,00	1,00
Sal	0,30	0,20	0,30	0,20
Premezcla	0,20	0,20	0,20	0,20
Sesquicarbonato de Na	0,10	0,10	0,10	0,10
Diclazuril	0,00	0,00	0,00	0,00
Metionina DL	0,20	0,20	0,20	0,20
Lisina HCL	0,10	0,10	0,10	0,10
Treonina L	0,10	0,10	0,10	0,10
Atrapador	0,10	0,10	0,10	0,10
Enzimas (OPTIMISE)	0,10	0,10	0,10	0,10
Polen	0,00	0,50	0,00	0,50
Lactosa	0,00	0,00	2,50	2,50
Total (kg)	100	100	100	100

Anexo 19.Dietas para la etapa Inicial.

INGREDIENTES	T0	T1	T2	T3
	0%P.A+0%L	0,5%P.A	2,5%L	0,5%P.A+2,5%L
Maíz	53,80	53,50	50,20	49,80
Trigo	10,00	10,00	10,00	10,00
Afrecho de trigo	0,00	0,00	0,00	0,00
Torta de soya	30,80	30,60	31,40	31,20
Aceite de palma	1,80	1,80	2,30	2,30
Aceite de girasol	0,00	0,00	0,00	0,00
Carbonato de calcio	1,30	1,30	1,30	1,30
Fosfato monocalcico	1,10	1,10	1,10	1,10
Sal	0,20	0,20	0,20	0,20
Premezcla	0,20	0,20	0,20	0,20
Sesquicarbonato de Na	0,30	0,30	0,30	0,30
Diclazuril	0,00	0,00	0,00	0,00
Metionina DL	0,20	0,20	0,20	0,20
Lisina HCL	0,10	0,10	0,10	0,10
Treonina L	0,10	0,10	0,10	0,10
Atrapador	0,10	0,10	0,10	0,10
Enzimas (OPTIMISE)	0,10	0,10	0,10	0,10
Polen	0,00	0,50	0,00	0,50
Lactosa	0,00	0,00	2,50	2,50
Total (%)	100	100	100	100

CAPÍTULO VII

VII. PROPUESTA

Adición de 0,5% de polen en dietas alimenticias de pollos de engorde, como estimulador de órganos linfoides durante los primeros 14 días de vida.

7.1 DATOS INFORMATIVOS

Las instituciones involucradas en la presente propuesta será la Facultad de Ciencias Agropecuarias, Carrera de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Técnica de Ambato.

7.2 ANTECEDENTES DE LA PROPUESTA

Con base a los datos obtenidos en la investigación, “Efecto del polen, lactosa y su combinación en los órganos inmunes y sobre las poblaciones microbianas cecales de pollos broilers” se llegó a comprobar que el tratamiento T1 (polen 0,5%), actuó mejorando la salud del ave, por lo tanto, se propone utilizar este tratamiento como alternativa al uso de antibióticos durante la etapa pre-inicial e inicial en las aves.

7.3 JUSTIFICACIÓN

La resistencia a los antibióticos ha llegado a ser una de las mayores amenazas del siglo XXI, gracias a una combinación de selección natural darwiniana y el uso descontrolado de antibióticos en animales de consumo, siendo así que en la unión europea su utilización ya ha sido prohibida, lastimosamente en nuestro medio se hace caso omiso, para lo cual, como Médicos Veterinarios Zootecnistas tenemos el deber de salvaguardar el bienestar del consumidor por medio de un control adecuado de la crianza de los animales y sus derivados.

En esta investigación se determinó el beneficio de combinar polen (0,5%) en la dieta de las aves, viéndose la notable disminución de UFC bacterianas, debido a la disminución de pH que causa la lactosa. La implementación de esta investigación en la producción de pollos de engorde no implica gastos elevados, además de la reducción del costo de uso de antibióticos que es la finalidad, además de tener un impacto positivo sobre los parámetros productivos.

7.4 OBJETIVOS

7.4.1 Objetivo General

Incluir 0,5% de polen en dietas alimenticias de pollos de engorde durante los primeros 14 días de vida.

7.4.2 Objetivos Específicos

Estimular el desarrollo de órganos linfoides mediante la inclusión de polen en dietas alimenticias durante los primeros 14 días de vida.

7.5 ANÁLISIS DE FACTIBILIDAD

Esta investigación es totalmente factible en lo económico y social, primero al utilizar productos de bajo costo para la adición en la dieta de pollos de engorde que traerán consigo mejoras en la producción, y porque el impacto sobre el consumidor dará el inicio de una búsqueda de carne de mejor calidad, animales sanos y libre de antibióticos.

7.6 FUNDAMENTACION

La revisión del antiguo concepto de prebióticos con nuevos enfoques científicos ha revitalizado la búsqueda de alternativas de sustitución a los antibióticos en la industria avícola. Tanto el polen y la lactosa están siendo utilizadas en la investigación en la dieta de aves de engorde.

Siempre nos veremos en la problemática de cambiar la forma de pensar, sobre todo de los pequeños productores, en donde ya tienen prácticas enraizadas que no siempre son las correctas; como por ejemplo el uso indiscriminado de antibióticos o no cumplir el tiempo de retiro de los mismos. Con estos antecedentes se espera que esta investigación pueda aportar un granito de arena a mejorar la producción de pollos de engorde y la calidad del producto, además de concientizar a productores y colegas.

Debido a las regulaciones internacionales para reducir o eliminar los antibióticos en los alimentos de las aves, y con la presión de mantener o incrementar los indicadores de eficiencia productiva en la avicultura para una población en crecimiento, se hace necesaria la búsqueda de alternativas a los antibióticos promotores de crecimiento. Las alternativas al uso de antibióticos deben ser efectivas, económicamente viables y que estén disponibles. Entre las alternativas en evaluación se encuentran los ácidos orgánicos, enzimas, prebióticos y probióticos entre otras (Castro, 2014).

7.7 METODOLOGÍA

Se debe adecuar al galpón normas de bioseguridad para evitar el ingreso de patógenos, es decir, cortinas, pediluvios, uso de desinfectantes, etc.

Restringir el ingreso de personas ajenas a la producción y eludir en lo posible la visita del productor a otras granjas.

Elaboración de una dieta con polen al 0,5%, formulada por los productores de pollos de engorde con materias primas de la zona para las etapas pre-inicial (1 a 7 días) e inicial (8 a 14 días).

La alimentación durante las dos primeras etapas debe ser *ad libitum*, es decir, a voluntad.

Se tomarán valores de peso de los órganos inmunes a los 14 días para monitorear el desarrollo de los mismos (Bursa, Bazo y Timo).

7.8 ADMINISTRACIÓN

La administración de esta investigación estará a cargo de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Técnica de Ambato.

7.9 PREVISIÓN DE LA EVALUACIÓN

Los avicultores mediante la realización de esta propuesta podrán mejorar sus ingresos económicos con la utilización de ingredientes alternativos en dietas para que formen parte de una dieta equilibrada según sus requerimientos nutricionales, con la finalidad de obtener mejores resultados con la reducción de costos de producción y con la presentación final de un producto de calidad.