

**UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS**  
**CARRERA MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**



**“EFECTO DEL PROPÓLEO SOBRE LAS VELLOSIDADES INTESTINALES Y  
MICROBIOTA CECAL EN CONEJOS (*Oryctolagus cuniculus*)”**

Trabajo de investigación previo a la obtención del grado de:

**MÉDICO VETERINARIO Y ZOOTECNISTA**

**Autor:**

Alexander Danny Punina Tituaña.

**Tutor:**

Dr. Mg. Pedro Díaz Sjostrom.

**Ambato – Tungurahua – Ecuador, 2017**

## DECLARACIÓN DE ORIGINALIDAD

La suscrita, ALEXANDER DANNY PUNINA TITUAÑA, portadora de cedula identidad número: 172258871-0, libre y voluntariamente declaro que el trabajo de investigación titulado: **“EFECTO DEL PROPÓLEO SOBRE LAS VELLOSIDADES INTESTINALES Y MICROBIOTA CECAL EN CONEJOS (*Oryctolagus cuniculus*)”** es original, auténtico y personal. En tal virtud, declaro que el contenido será de mi sola responsabilidad legal y académica, excepto donde se indican las fuentes de información consultadas.

.....  
Alexander Danny Punina Tituaña.

C.C. 172258871-0

## DERECHO DE AUTOR

Al presentar este Informe Final del Proyecto de Investigación titulado “**EFEECTO DEL PROPÓLEO SOBRE LAS VELLOSIDADES INTESTINALES Y MICROBIOTA CECAL EN CONEJOS (*Oryctolagus cuniculus*)**” como uno de los requisitos previos para la obtención del título de Tercer Nivel en la Universidad Técnica de Ambato, autorizo a la Biblioteca de la Facultad, para que haga de esta tesis un documento 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 esta tesis, o de parte de ella.

.....  
Alexander Danny Punina Tituaña.

C.C. 172258871-0

**TEMA:**

**“EFECTO DEL PROPÓLEO SOBRE LAS VELLOSIDADES INTESTINALES Y MICROBIOTA CECAL EN CONEJOS (*Oryctolagus cuniculus*)”**

**REVISADO POR:**

.....  
Dr. Pedro Díaz Sjostrom, Mg

**TUTOR**

.....  
Dr. Marco Rosero Peñaherrera, Mg

**ASESOR DE BIOMETRIA**

**APROBADO POR LOS MIEMBROS DEL TRIBUNAL DE CALIFICACIÓN:**

**FECHA**

.....  
Ing. Hernán Zurita Vásquez, Mg

**PRESIDENTE DEL TRIBUNAL DE CALIFICACIÓN**

.....  
Dr. William Calero, PhD.

**MIEMBRO DEL TRIBUNAL DE CALIFICACIÓN**

.....  
Ing. Patricio Núñez Torres, Mg

**MIEMBRO DEL TRIBUNAL DE CALIFICACIÓN**

## **AGRADECIMIENTO**

## **DEDICATORIA**

## ÍNDICE DE CONTENIDO

CAPÍTULO I.....	1
INTRODUCCIÓN .....	1
CAPÍTULO II .....	3
MARCO TEÓRICO .....	3
2.1 ANTECEDENTES INVESTIGATIVOS .....	3
2.2 CATEGORÍAS FUNDAMENTALES.....	10
2.2.1 Propóleo.....	10
2.2.2 Parámetros productivos. ....	12
2.2.3 Conejos .....	14
HIPÓTESIS Y OBJETIVOS.....	16
3.1 HIPÓTESIS ALTERNATIVA.....	16
3.2 OBJETIVO GENERAL .....	16
3.3 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	16
CAPÍTULO IV .....	17
MATERIALES Y MÉTODOS .....	17
4.1 UBICACIÓN DEL ENSAYO.....	17
4.2 CARACTERIZACIÓN DE LUGAR. ....	17
4.3 EQUIPOS Y MATERIALES .....	17
4.3.1 Material experimental.....	17
4.3.2 Otros Materiales .....	17
4.3.3 Reactivos .....	18
4.3.4 Equipos .....	18
4.4 FACTORES DE ESTUDIO .....	19
4.5 TRATAMIENTOS.....	19
4.6 DISEÑO EXPERIMENTAL.....	19
4.7 VARIABLES RESPUESTA. ....	20
4.7.1 Velloidades intestinales y criptas de Lieberkuhn.....	21
4.7.2 pH cecal.....	22
4.7.3 Conteo de enterobacterias y coliformes. ....	22
4.7.4 Densidad Intestinal .....	23
4.8 PROCESAMIENTO DE LA INFORMACIÓN.....	23

CAPÍTULO V .....	24
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	24
5.1 RESULTADOS Y DISCUSION.....	24
5.1.1 Vellosidades intestinales .....	24
Altura y profundidad de las criptas de Lieberkuhn. ....	24
5.1.2 pH cecal.....	25
5.1.3 Densidad intestinal .....	25
5.1.4 Recuento de enterobacterias y coliformes .....	26
CAPÍTULO VI.....	28
6.1 CONCLUSIONES.....	28
6.2 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	29
6.3 ANEXOS.....	34
CAPÍTULO VII.....	45
7.1 PROPUESTA .....	45
7.2 DATOS INFORMATIVOS.....	45
7.3 ANTECEDENTES DE LA PROPUESTA .....	45
7.4 JUSTIFICACIÓN.....	46
7.5 OBJETIVO.....	46
7.6 ANÁLISIS DE FACTIBILIDAD.....	46
7.7 FUNDAMENTACIÓN .....	47
7.8 METODOLOGÍA.....	47
7.9. ADMINISTRACIÓN .....	48
<b>7.10. PREVISIÓN DE LA EVALUACIÓN .....</b>	<b>48</b>

## ÍNDICE DE TABLAS

Tablas	CONTENIDO	Pág
<b>Tabla 1.</b>	Requisitos ambientales en los alojamientos cunícolas.....	14
<b>Tabla 2.</b>	Condiciones meteorológicas.....	17
<b>Tabla 3.</b>	Número de tratamiento, repeticiones y número de animales distribuidos.	20
<b>Tabla 4.</b>	Composición química de la dieta.....	23
<b>Tabla 5.</b>	Comparación de la Altura y profundidad de criptas de Lieberkuhn del yeyuno en conejos tratados con EEP.	26
<b>Tabla 6.</b>	Comportamiento del pH cecal en conejos tratados con EEP.....	27
<b>Tabla 7.</b>	Densidad intestinal en conejos tratados con diferentes niveles de EEP en la dieta.	28
<b>Tabla 8.</b>	Evaluación de Enterobacterias en conejos tratados con diferentes concentraciones de EEP. (Kruskal wallis)	29
<b>Tabla 9.</b>	Evaluación de Coliformes en conejos tratados con diferentes concentraciones de EEP. (Kruskal wallis)	29

<b>ANEXOS</b>	<b>CONTENIDO</b>	<b>Pág.</b>
<b>Anexo 1.</b>	Análisis de varianza de Altura y Profundidad intestinal.....	<b>36</b>
<b>Anexo 2.</b>	Prueba de significación de Tukey al 5% de Altura y profundidad intestinal.....	<b>36</b>
<b>Anexo 3.</b>	Prueba de contraste para Altura y profundidad intestinal.....	<b>37</b>
<b>Anexo 4.</b>	Análisis de varianza de Peso y longitud intestinal.....	<b>37</b>
<b>Anexo 5.</b>	Prueba de significación de Tukey al 5% de Peso y longitud intestinal.....	<b>38</b>
<b>Anexo 6.</b>	Prueba de contraste para Peso y longitud intestinal.....	<b>38</b>
<b>Anexo 7.</b>	Análisis de Varianza de pH cecal.....	<b>39</b>
<b>Anexo 8.</b>	Prueba de significación de Tukey al 5% de pH cecal.....	<b>39</b>
<b>Anexo 9.</b>	Prueba de contraste para pH cecal.....	<b>39</b>
<b>Anexo 10.</b>	Análisis de Enterobacterias y coliformes.....	<b>40</b>
<b>Anexo 11.</b>	Prueba de Kruskal Wallis para Enterobacterias y Coliformes.....	<b>40</b>
<b>Anexo 12.</b>	Preparación del propóleo y obtención del extracto.....	<b>41</b>
<b>Anexo 13.</b>	Preparación de las instalaciones FCAGR.....	<b>41</b>
<b>Anexo 14.</b>	Toma de peso inicial .....	<b>42</b>
<b>Anexo 15.</b>	Administración del extracto.....	<b>42</b>
<b>Anexo 16.</b>	Elaboración de balanceado.....	<b>43</b>
<b>Anexo 17.</b>	Recolección de muestras para Histología.....	<b>43</b>
<b>Anexo 18.</b>	Ph cecal.....	<b>44</b>
<b>Anexo 19.</b>	Conteo de las colonias en placas petrifilm.....	<b>44</b>
<b>Anexo 20.</b>	Análisis de histología Altura intestinal.....	<b>45</b>
<b>Anexo 21.</b>	Análisis de histología Profundidad de las criptas de Lieberkuhn.....	<b>46</b>

## RESUMEN

La investigación se realizó en la granja de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Técnica de Ambato con el objetivo de evaluar el efecto de un extracto etanólico de propóleo (EEP) sobre las vellosidades intestinales y microbiota cecal, se seleccionaron 36 conejos híbridos (NZ x C), destetados con 35 a 42 días de edad, que fueron alojados individualmente y distribuidos aleatoriamente en tres grupos de 10 conejos cada uno, T0: Testigo (0), T1: 25 mg/día (EEP), T2:37,5 mg/día (EEP). Al término del periodo de ceba (40 días) fueron sacrificados tomándose muestras de heces directamente del ciego para exámenes bacteriológicos. El conteo de la unidad formadora de colonia (UFC) para enterobacterias y coliformes se realizó con el kit (3M Petrifilm) y la métrica de las vellosidades intestinales mediante histología de una porción tomada del intestino delgado (duodeno). Como resultados se obtuvo que el grupo T2 presentó un ligero incremento no significativo en la altura de las vellosidades intestinales (T0: 0,95 mm; T1: 0,89 mm y T2: 1,00 mm), la profundidad de las criptas de Lieberkuhn se comportó de igual forma mostrando una mayor profundidad en T2 y T3, aunque no se presentó diferencia estadísticamente significativa, frente a los tratamientos (T0: 0,11mm; T1: 0,12 mm y T2: 0,12 mm). El conteo de unidades formadoras de colonias (UFC) de Enterobacterias disminuyó significativamente en los grupos tratados con respecto al testigo (T0: 72,60; T1: 61,20 y T2: 55,91), y dentro de estas el conteo de UFC de Coliformes de igual forma (T0: 62,50; T1: 50,30 y T2: 48,90). El pH cecal no presentó variaciones significativas entre grupos (T0: 6,62; T1: 6,74 y T2: 6,70). Se concluye que la incorporación de extracto etanólico de propóleo como aditivo natural, disminuye la población de enterobacterias y coliformes, previniendo problemas digestivos, así como una ligera variación en la altura y profundidades de las criptas de lieberkuhn que puede mejorar el comportamiento productivo en conejos basado en una mejor salud de la mucosa y mayor absorción de nutrientes.

**Palabras claves:** Propóleo, conejos, morfología intestinal, pH cecal, microbiota cecal.

## ABSTRACT

The research was performed on the experimental rabbit farm of the Faculty of Agricultural Sciences of the Technical University of Ambato with the objective of evaluate the effect of a ethanolic propolis extract (EEP) on intestinal villi morfology and cecal microbiota, 36 selected hybrid rabbits (NZ x C) weaned from 35 to 42 days of age, which were individually housed and randomly distributed into three groups of 10 rabbits each, T0: Control (0), T1: 25 mg / day (EEP), T2: 37.5 mg / day (EEP). At the end of the fattening period (40 days), they were sacrificed, and fecal samples were taking directly from the caecum for bacteriological examinations. The count of the colony forming unit (CFU) for enterobacteria and coliforms was performed with a kit (Petrifilm 3M) and the intestinal villus were taking from a portion of small intestine (duodeno) to histology examination. As a result, it was found that the T2 group had a slight non-significant increasing in the intestinal villi height (T0: 0.95 mm, T1: 0.89 mm and T2: 100 mm), the Lieberkuhn crypts depth was also shown a greater depth in T2 and T3, although, there was no statistically significant difference compared among the treatments (T0: 0, 11 mm, T1: 0, 12 mm and T2: 0, 12 mm). The count of colony forming units (CFU) of enterobacteria decreased significantly in the treated groups with respect to the control (T0: 72.60, T1: 61.20 and T2: 55.91), and the CFU count of coliforms shown the same perfomance (T0: 62.50, T1: 50.30 and T2: 48.90). The cecal pH did not show any significant variations between the groups (T0: 6.62, T1: 6.74 and T2: 6.70). It is concluded that the incorporation of ethanol extract of propolis as natural additive, decreases the population of enterobacteria and coliforms, preventing digestive problems, as well as a slight variation in the height and depth of the lieberkuhn crypts, that can improve the productive performance in rabbits based on better mucosal health and greater absorpion of nutrients.

**Keywords:** Propolis, rabbits, intestinal morphology, cecal pH, cecal microbiota

## CAPÍTULO I

### INTRODUCCIÓN

La producción cunícola en los últimos años ha sido ampliamente apreciada por su principal aptitud cárnica, alta prolificidad y rápido engorde, lo cual contribuye al incremento y desarrollo de esta actividad. El consumo mundial de carne de conejo está ascendiendo progresivamente desde fines de la década de los 90, llegando en el año 2004, a una producción de 1 121456 toneladas de carne, que representa un incremento del 14% respecto al 2003. Por otro lado, el estudio del mercado a nivel nacional revela que las provincias con mayor producción son: Tungurahua (50% del total nacional), seguida por Pichincha, Chimborazo, Imbabura y Cotopaxi Moposita, (2014). Se considera que en Tungurahua hay una oferta del producto de alrededor de 34 803 kilos de carne por año y una demanda de 67 378 kilos, es decir que está satisfecha la demanda en un 51.66% (Fiallos 2009).

La alimentación en los conejos es generalmente a base de forrajes como alfalfa, avena forrajera y maíz. Hoy en día se incentiva la búsqueda de estrategias alternativas basadas en el uso de materias primas no convencionales para su alimentación Capucho et al., (2012). En la actualidad es una de las explotaciones pecuarias con mejor potencial de producción en nuestro país, pues es una especie potencialmente productora de carne. La crianza de conejos constituye una importante fuente de alimentación nutritiva para la población de diferentes partes del país. (Martínez, n.d.).

El propóleo proviene del griego, pro (antes) y polis (ciudad), y significa “defensas antes de la ciudad” o “defensor de la ciudad” Pérez, M, (1987). El uso que las abejas le dan al propóleo despertó el interés por estudiar esta sustancia como alternativa para tratar enfermedades de piel y de ojos. Además, de implementarlo como antioxidante y suplemento alimenticio en las dietas de animales, entre otros. Este producto es colectado por las abejas (*Apis mellifera*) de plantas, capullos y exudados de árboles Peña, (2008). Está compuesto por resinas (50%), ceras (30%) y aceites esenciales (10%); así como proteínas (5%) y algunas vitaminas (5%), su calidad varía en cuanto a las sustancias que

lo componen, la zona geográfica de recolección, condiciones climáticas, estado de la colmena y a la alimentación de las abejas. Asimismo, presenta diferentes colores, verde pardo, rojo, castaño e incluso casi negro, dependiendo de su origen botánico y su sabor es amargo (Bedolla C; Ponce de León, 2008).

Según, Gidenne, T. (1996) los factores nutricionales pueden, actuar a dos niveles: aportando nutrientes apropiados en cantidad y calidad de la flora cecal, asegurando una correcta motilidad en el ciego y en tránsito del contenido en los restantes tramos del tubo digestivo. La actividad microbiana cecal depende estrechamente del aporte de nutrientes, ya hasta los 3 meses de edad.

Por tal razón, el objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto del propóleo sobre las vellosidades intestinales y microbiota cecal en conejos (*Oryctolagus cuniculus*).

## CAPÍTULO II

### MARCO TEÓRICO

#### 2.1 ANTECEDENTES INVESTIGATIVOS

En la actualidad, el propóleo despierta un gran interés en los apicultores, así como en científicos a nivel mundial, ya que presenta una considerable actividad nutricional y terapéutica Giral (2001). El propóleo posee excelentes cualidades fisicoquímicas y organolépticas, gracias a la gran variedad de componentes como terpenos y flavonoides. (Astudillo et al., 2000).

Milena & Diaz, (2016), Realizaron un estudio en pollos de engorde, comprobando el efecto del propóleo y polen en el sistema inmunológico y ganancia de peso a la canal. Tuvieron seis tratamientos con diferentes porcentajes de propóleo y polen. La conclusión a la que llegaron fue que no existió diferencia significativa entre los tratamientos, aunque se demostró el efecto en el sistema inmunológico, ya que los animales no presentaron enfermedad y se desarrollaron de la misma manera que el testigo que recibió plan de vacunación, vitaminas y antibióticos.

Eyng et al., (2015), en su investigación evaluaron, la suplementación de extracto etanólico de propóleos (EEP) en dietas de pollos de engorde, midiendo su respuesta inmune (humoral y celular), el peso de órganos linfoides y hematología. En este experimento utilizaron 192 pollos (machos), criados en jaulas hasta los 21 días de edad. El diseño experimental fue completamente al azar con seis tratamientos, con diferentes niveles de inclusión de EEP (0; 1 000; 2 000; 3 000; 4 000 y 5 000 ppm), con ocho repeticiones y cuatro aves como unidad experimental. Los resultados comprobaron que los niveles de EEP no influenciaron el conteo de linfocitos, basófilos, eosinófilos, y una actividad fagocítica de los macrófagos, número promedio de eritrocitos fagocitados y producción de óxido nítrico no fueron alterados ( $P > 0,05$ ). Concluyendo, que la inclusión de 1 000 a 5 000 ppm de extracto etanólico de propóleo en la dieta inicial de pollos de engorde no proporcionó acción inmunoestimulante. Sin embargo, los pollos que recibieron la inclusión de 3 000 ppm de EEP presentaron menor ( $P < 0,05$ )

porcentaje de monocitos, comparado con los pollos alimentados con el grupo control. También, observaron que hubo aumento lineal ( $P < 0,05$ ) de los niveles de anticuerpos séricos contra la enfermedad de Newcastle, al incrementar el nivel de EEP en la dieta. No obstante, al comparar cada nivel de inclusión del extracto con el control no hubo diferencias ( $P < 0,05$ ).

Velazquez et al., (2015), evaluaron el efecto del propóleo y aceites de anacardo y ricino sobre los índices productivos, ingestión de alimento, digestibilidad y células sanguíneas de toros jóvenes. En su metodología, los toros fueron alimentados con una dieta control (CON) con ensilaje de sorgo (41% DM), maíz triturado, harina de soja, glicerina, piedra caliza y sal mineral. El grupo suplementado con propóleo (PRO) recibió 3 g/animal/día en el concentrado. El grupo suplementado con aceites esenciales (OIL) recibió 3 g/animal/d (1,5 g de anacardo + 1,5 g de aceite de ricino), añadido al concentrado. Sus resultados en el peso corporal final, promedio de ganancia diaria y eficacia alimenticia fueron mejores para los toros jóvenes alimentados con la dieta OIL. Los propóleos o aceites esenciales no tuvieron efecto sobre el consumo de alimento y digestibilidad. No hubo efecto de propóleos o adición de aceites esenciales en las dietas con respecto a los valores medios de las células sanguíneas. El número de células rojas sanguíneas fue mayor en el último día de experimentación, mientras que el número de células blancas sanguíneas fue menor.

Lana et al., (2007), ejecutaron un trabajo de investigación donde evaluaron la inclusión de niveles crecientes de aceite y propóleo en la alimentación de cabras lecheras. Evaluaron el consumo de materia seca, nutrientes y parámetros de fermentación ruminal, para este experimento se utilizaron seis cabras fistuladas en el rumen (70 kg de PV). Los animales fueron alimentados con el mismo concentrado, los cuales poseen el 67% de ensilaje de maíz y un 33% a base de maíz y de salvado de trigo, en los cuales adicionaron extracto etanólico de propóleos (0; 1,0; 2,0; 4,0; 8,0; 12,0 ml/animal/día) y propóleo bruto molido (0; 0,5; 1,0; 2,0; 4,0 y 6,0 g/animal/día). Observaron reducción en el consumo de materia seca, aumento del pH y disminución del acetato ruminal, al mismo tiempo que aumentaron los niveles de grasa, proteína y sólidos totales en la leche. Además, de disminuir la producción de gas, estimulando el

crecimiento microbiano ruminal y aumenta la digestibilidad de los carbohidratos estructurales y solubles.

En un estudio realizado por Nassar et al., (2012) se propuso demostrar el efecto positivo que tiene el extracto etanólico de propóleo egipcio administrado solo o en combinación con vacuna de *Pasteurella multocida* inactivada en conejos, para lo cual utilizaron cincuenta y seis conejos de la raza Neo-Zelandia de 6-8 semanas de edad no vacunados contra la pasteurelisis, se dividieron aleatoriamente en ocho grupos iguales: el primer grupo se mantuvo como un control para el experimento, los otros grupos recibieron diferentes tratamientos con extracto de propóleo, vacuna inactivada, y ambos. Al final de la séptima semana, los animales fueron sometidos a un reto con una cepa virulenta de *Pasteurella multocida*. Dos semanas más tarde, se recogieron muestras de diferentes órganos para el examen histopatológico. Los resultados fueron que los conejos de los grupos tratados tanto con propóleos como con la vacuna por diferentes vías aparentaban estar sanos después de la inoculación. De esta manera el extracto alcohólico de propóleo administrado en combinación con la vacuna inactivada de *Pasteurella multocida*, no posee efectos adversos sobre las condiciones generales de salud, mejorando también la respuesta inmune en conejos.

Capucho et al., (2012) realizaron un estudio donde evaluaron el efecto del propóleo brasileño en el recuento de espermatozoides, morfología del epidídimo y estrés oxidativo. Para el cual utilizaron cuarenta y ocho ratas adultas, los mismos que fueron tratadas con 3, 6 y 10 mg / kg / día de extracto acuoso de própolis verde brasileño durante 56 días durante el periodo del experimento se evaluó parámetros morfológicos, producción de espermatozoides, número de espermatozoides en el epidídimo y los niveles de estrés oxidativo. Los resultados mostraron mayor producción de espermatozoides, mayor altura del segmento epidídimo inicial y ninguna inducción de estrés oxidativo en animales tratados.

Abdel, M, et al., (2013), evaluaron los efectos bioquímicos de algunos agentes antiprotozoarios como propóleos y toltrazuril, en el tratamiento de la enfermedad por coccidias y sus efectos sobre ciertas enfermedades gastrointestinales relacionadas. Los conejos se dividieron en cuatro grupos iguales cada uno de seis conejos, siendo el grupo

1 el control, los grupos 2, 3 y 4 fueron infectados con 40 000 oocistos esporulados de *Eimeria sp*, para cada conejo. Los resultados obtenidos revelaron que la administración de oocistos esporulados de *Eimeria sp*, en conejos normales presentó una marcada disminución de amilasa, lipasa, gastrina, catalasa y GST, con un aumento de ALT, AST, GGT, ALP y L-MDA en comparación con el grupo control. El resultado del grupo tratado con toltrazuril, fueron similares al grupo control, las heces se encontraban libres de oocistos de *Eimeria sp*. Por otro lado, los conejos tratados con propóleo mejoran los parámetros productivos, y las heces de los conejos estaban libres de oocistos de *Eimeria sp*. Además, de aumentar el apetito y el peso corporal adquirido.

El objetivo de este estudio, fue evaluar el efecto de diferentes promotores de crecimiento, en la morfología de la mucosa intestinal de pollos de engorde de 42 días de edad. Se utilizaron 36 pollos Cobb distribuidos en un diseño experimental aleatorio con un arreglo factorial 3 x 3, con 3 fuentes de prebióticos y 3 probióticos en la alimentación, son 9 tratamientos con 4 repeticiones cada uno. Se observó una interacción significativa ( $P < 0,01$ ), entre la Altura de las vellosidades (VH) en todos los segmentos intestinales, y en la profundidad de la cripta (CD) en el duodeno e íleon. En la porción del duodeno, se obtuvieron vellosidades superiores que en el grupo control, con el uso único de MOS + OA. Aunque, no existió diferencias de VH en el grupo control y los alimentados con prebióticos. En el yeyuno, se obtuvieron las vellosidades más altas en el grupo control, por el uso de *B. subtilis*. En el íleon, las vellosidades más altas se obtuvieron con el uso individual de *B. subtilis*, y cuando MOS + OA o MOS se utilizaron individualmente o en combinación. En cuanto a CD del duodenal, se observaron criptas más profundas en el grupo control y en aquellos alimentados con *B. subtilis* o MOS + OA. Las criptas más profundas también se encontraron en el íleon del grupo control y los alimentados con *B. subtilis*. También, se encontraron criptas más profundas individualmente o en combinación con MOS + OA y con el uso individual de MOS. Se llegó a la conclusión, de que el uso de promotores fue beneficioso para aumentar la altura de las vellosidades intestinales cuando *Bacillus subtilis* se utilizó en combinación con prebióticos. El otro promotor de crecimiento (MOS + OA, MOS y el pool bacteriano), pueden usarse individualmente en la mayoría de las situaciones. Los

promotores de crecimiento probados no influyeron en la densidad de las vellosidades intestinales. (Pelicano et, al 2007).

Qureshi et al., (2016) mencionan que, las plantas herbáceas y sus productos derivados se utilizan particularmente en muchos países, ya que se los considera como aditivos ideales para la alimentación animal, debido a su efecto no residual y su capacidad para influir en el ecosistema de la población bacteriana gastrointestinal en una manera positiva. Se han reportado, que la hoja de diente de león y sus semillas tiene un efecto positivo en términos de mejorar el rendimiento nutricional en pollos de engorde, pero no existe mucha literatura disponible sobre su efecto en la histología intestinal. Por lo tanto, el presente estudio se lleva a cabo para averiguar el efecto de esta planta, ya sea solo en combinación con o sin tratamientos enzimáticos, en la histomorfología del hígado y del intestino delgado. Para lograr el objetivo, se adquieren pollos de un galpón con renombre, al séptimo día los polluelos fueron pesados individualmente, distribuidos aleatoriamente en 7 grupos de tres repeticiones, con 13 pollitos cada uno. Las aves del grupo control recibieron dieta sin aditivo (T1), los otros fueron alimentados con dieta basal suplementada con 0,5% de hoja de diente de león (T2), 1% de semilla de fenogreco (T3), combinación de 0,5% de hoja de diente de león y 1% de semilla de fenogreco (T4), hoja de diente de león tratada con enzimas (0,5%) y fenol (1%) semilla (T7). El estudio histomorfológico del hígado y del intestino delgado se realizó entre diferentes grupos de tratamiento. Los resultados revelaron la naturaleza hepato-protectora de las hojas de diente de león como de las semillas de fenogreco, combinadas con o sin tratamiento enzimático, en comparación con el grupo control. Por otra parte, las características histomorfológicas del yeyuno, revelaron el efecto benéfico de las hojas de diente de león y las semillas de fenogreco en las enzimas en la mucosa intestinal en términos de infiltración celular, la arquitectura de las vellosidades como en su altura y relación profundidad de criptas mejoraron la salud intestinal. En conclusión, las hojas de diente de león y la semilla de fenogreco, tienen naturaleza hepato-protectora y efecto benéfico sobre la morfología intestinal, especialmente cuando se incluye con la enzima en la dieta.

Sin embargo, Ayoola et al., (2015) realizaron un experimento en aves, donde las suplementaron con enzimas exógenas, las cuales buscan aliviar los efectos adversos de

los factores anti nutricionales (ANF), sobre la digestibilidad aparente de nutrientes. Se sabe poco sobre cómo afecta la salud intestinal, particularmente con el desarrollo morfológico de la mucina entérica. Se elaboró dos ensayos para examinar el efecto de suplementación dietética de diferentes tipos de enzimas exógenas, sobre la salud intestinal del yeyuno y del adherente entérico ileal (capa de espesor de la mucina). El suplemento dietético B-mananasa, redujo el ileal (804 frente a 823 ug/g,  $p < 0,05$ ), mientras que una mezcla comercial de xilanas, amilasa y proteasa (XAP) redujo el espesor de la capa de mucina adherente ileal (589 frente a 740 ug/g  $p < 0,05$ ), reduciendo así la aparente pérdida endógena de nutrientes. Ambos suplementos enzimáticos también afectaron las características morfológicas intestinales, en comparación con el tratamiento control, la suplementación con B- mananasa dietética mejoro la punta del yeyuno y el ancho (219 frente 161,  $p < 0,05$ ), ancho de la base (367 frente a 300,  $p < 0,05$ ). En conclusión, la suplementación dietética de las enzimas exógenas, puede ayudar a aliviar los efectos adversos de los ANF en la utilización de nutrientes, mediante la eliminación directa o indirecta de la irritación de la mucosa quien estimula la secreción de mucina entérica.

Zavarize, S & Pezzato, (2012). Ejecutaron su investigación, con el objetivo de evaluar el desarrollo histo-morfológico, cambios en los diferentes períodos de ayuno antes de la muestra de tejido en diferentes segmentos del intestino delgado (duodeno, yeyuno e íleon) en polluelos machos de 7 días de edad. Un diseño experimental completamente al azar con un arreglo factorial  $2 \times 7$ , para lo cual se utilizó dos líneas de pollos de engorde en crecimiento (Ross 308 y HyLine® W36) y siete períodos de ayuno (0, 2, 4, 6, 8, 10 y 12 Horas), con seis repeticiones, con un total de 84 aves. Los pollitos demostraron un desarrollo más rápido del tracto digestivo. En el período de ayuno se obtuvo cambios morfológicos en el hígado, intestinos delgado e intestino grueso, de ambos tratamientos. Por lo tanto, se debe tomar en cuenta que en estudios con pesos de órganos y morfometría intestinal, las aves no deben pasar por el ayuno.

Por otra parte, Souza, (2014) evaluó el efecto de la reducción de los nivel de energía. Además, si la inclusión de xilanas en la dieta mejora el rendimiento y la morfometría de la mucosa intestinal en gallinas de dos a seis semanas. En total, se distribuyeron 400 gallinas ponedoras (Hy-line W36), con un diseño completamente al

azar en arreglo factorial 2 x 2 (Nivel de energía x inclusión de xilanas), cumpliendo con cuatro tratamientos, con 10 repeticiones y 10 aves por unidad experimental. Los tratamientos fueron: control positivo (dieta equilibrada), control positivo + xilanas, control negativo (dieta con una reducción de 100 kcal ME / kg), control negativo + xilanas. La ganancia de peso, conversión alimenticia, uniformidad y habitabilidad no fueron influenciados por dietas con reducción de energía metabolizable, incluyendo la inclusión de xilanas. Sin embargo, la adición de xilanas en las dietas dió como resultado, que la profundidad de criptas fue menor y obtuvo mayor largo de vellosidad en el íleon. La reducción de energía en la dieta asociada con la suplementación de xilanas no influyó, pero aumentó la ingesta de pienso a las 2 y 6 semanas de edad. Dando como resultado que la incorporación de xilanas, reduce la profundidad de las criptas en el íleon de las gallinas de 6 semanas de edad.

Aguavil, (2012). En este trabajo se estudiaron los efectos de la suplementación de probióticos sobre el pH del contenido de los cultivos, la morfometría del íleon y en el número de enterobacterias en el ciego de los pollos de engorde. De las 120 aves estudiadas, 60 pertenecían al grupo de prueba y 60 al grupo de control. A los 7, 12, 18, 23 y 28 días de edad, se pesaron los pollos y las raciones para determinar la mortalidad y la morbilidad. A continuación, se sacrificaron las aves y se midió el pH del contenido de los cultivos, se recogieron fragmentos de íleon para análisis morfométrico, y se cuantificaron las enterobacterias en el contenido cecal. El pH medio fue menor en el grupo que recibió probióticos a los 7 y 18 días de edad. No existió diferencias en el consumo de raciones, peso, mortalidad y tasas de morbilidad. Los conteos de enterobacterias fueron menores en los animales suplementados con probióticos, a los 7, 18 y 28 días. La medida de la vellosidad del íleon fue mayor para el grupo tratado con probióticos en todas las edades, excepto para el primer día de edad, en comparación con el grupo control. Este trabajo demuestra que la suplementación con probióticos, reduce el pH del contenido de los cultivos a las edades de 1, 7 y 18 días, y puede contribuir a la reducción de bacterias patógenas en los primeros días de vida, reduciendo la cantidad de enterobacterias en el ciego. Además, los probióticos aumentan la altura de las vellosidades del íleon.

Se estudió los efectos probióticos sobre el rendimiento del crecimiento, características de la canal, parámetros sanguíneos, microbiota cecal y respuesta inmune en pollos de engorde. Doscientos pollos de un día de edad fueron asignados a uno de los cinco tratamientos (cuatro repeticiones de 10 aves por tratamiento): control y la misma dieta de control suplementada con probióticos 0,005%, 0,01%, 0,015% y 0,02%. Los probióticos en los piensos con niveles de 0,01% o más aumentaron el peso corporal (+12%) y el índice de conversión alimenticia (-5%) en comparación con el grupo control. No hubo efectos sobre los pesos de la canal, pero los pesos relativos de los muslos y las alas mostraron respuestas lineales crecientes y decrecientes, respectivamente. El contenido de glucosa y albúmina en plasma sanguíneo, aumentó linealmente (de 167,1 a 200,5 mg dl-1 y de 1,70 a 3,25 g dl-1), con el aumento de la suplementación probiótica. Los triglicéridos y los contenidos de colesterol fueron menores en los tratamientos con probióticos (contenido promedio 71,3 y 125,3 mg dl-1 frente a 92,6 y 149,9 mg dl-1 en el testigo). Los probióticos disminuyeron los recuentos de *Escherichia coli* cecal, pero no tuvieron efectos en los órganos relacionados con la inmunidad ni en la respuesta inmune. Las tendencias lineales, positivas o negativas, observadas en muchos de los parámetros estudiados, sugieren que se necesitan más estudios para establecer la concentración óptima de probióticos en la alimentación de pollos de engorde. (Pourakbari, Seidavi, Asadpour, & Martínez, 2016).

## **2.2 CATEGORÍAS FUNDAMENTALES**

### **2.2.1 Propóleo**

Es una resina de composición compleja y consistencia viscosa, producto del trabajo metabólico de las abejas. Entre su composición se destaca los flavonoides, los ácidos fenólicos, ácidos aromáticos y sus ésteres. Los materiales colectados son triturados, humedecidos y mezclados con cera. En estado fresco tiene una textura resinosa, cuando ha permanecido más de cinco meses presenta una textura quebradiza. La colmena usa el propóleo con fines defensivos y estructurales, ya que mantiene la colmena libre de bacterias y hongos patógenos, actúa como soporte para cubrir rendijas y agujeros, lo cual regula la temperatura al interior de la colmena. (Peña,R. 2008).

Un estudio realizado por Cabriales et al., (2013), muestra las propiedades del propóleo, entre los que se destacan: Resinas y bálsamos aromáticos 50-80%, aceites esenciales y otras sustancias volátiles (4,5 a 15%), ceras (12-15%), polen (5-11%), flavonas, flavonoides, flavononas, dihidroflavonas, ácido linoleico, vitaminas A, B1, B2, B6, C, E, ácido nicotínico, ácido pantoténico, cobre, manganeso, magnesio, níquel, plata, silicio, vanadio, zinc.

#### - **Actividad antioxidante del propóleo.**

Es un producto natural colectado por las abejas a partir de los exudados de las plantas, es ampliamente utilizado en la medicina tradicional por sus reconocidas propiedades terapéuticas. En este estudio se determina el contenido de flavonoides, fenoles totales y la actividad antioxidante in vitro, la cual es establecida empleando las técnicas de captura de los radicales libres, así como la capacidad reductora del hierro. Se demostró que la actividad antirradical varía entre  $33,9 \pm 9,7$  y  $455,5 \pm 7,8$   $\mu\text{mol TE/g}$  de extracto etanolito de propóleo. Los resultados muestran una reacción positiva de su capacidad antioxidante. (Durán, P. 2009)

#### - **Actividad antibacteriana y antifúngica del propóleo**

El propóleo un producto natural elaborado por las abejas melíferas (*Apis mellifera*) a partir de los brotes y exudados de diferentes plantas, se ha empleado en la medicina tradicional desde tiempos ancestrales, debido a sus propiedades biológicas. La composición química de este producto de la colmena es altamente compleja y dependiente de la vegetación circundante al sitio de recolección. En este trabajo, se evaluaron las características fisicoquímicas, la actividad antifúngica y antibacteriana del propóleo, colectado en el municipio de La Unión (Antioquia, Colombia). Los resultados del análisis fisicoquímico del propóleo fueron: punto de fusión 67-68 °C; sustancias extractables con hexano  $74,32 \pm 0,90\%$ ; resinas solubles en etanol  $14,08 \pm 2,24\%$ ; residuos insolubles  $10,47 \pm 0,84\%$ ; pérdidas por calentamiento  $1,82 \pm 0,32\%$ ; cenizas  $0,16 \pm 0,01\%$ , y el índice de oxidación  $8,0 \pm 3,0$ . La evaluación de la actividad

antifúngica, contra los hongos *Colletotrichum gloeosporioides*, *C. acutatum*, *Aspergillus sp.* y *Penicillium sp.*, y de actividad antibacteriana, contra *Bacillus subtilis* (esporulada), *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Salmonella tiphy*, demuestran un efecto moderado del propóleo en la inhibición del crecimiento del microorganismo. El análisis mediante cromatografía de gases espectrometría de masas (CG-EM), permitió la detección de ácidos grasos, sus ésteres, esteroides y diterpenos (Fisicoquímica et al. 2010).

- **Actividad antiinflamatoria del propóleo.**

El extracto de etanol de propóleo suprimió la generación de prostaglandina y leucotrienos in vitro, durante enzimas inducida por la inflamación peritoneal aguda in vivo Mirzoeva, G. (1997). El propóleo suprimió significativamente la vía de la lipoxigenasa, del metabolismo del ácido araquidónico durante la inflamación in vivo (Cayuela and Serrano 2003).

**2.2.2 Parámetros productivos.**

- **Vellosidades intestinales y criptas de Lieberkuhn.**

Si se examina de cerca la superficie luminal del intestino delgado es similar a terciopelo, debido a que está cubierta por millones de pequeñas proyecciones llamadas vellosidades. Las vellosidades son la característica más obvia de la mucosa, la cual alberga una población dinámica, de células epiteliales que incluye células secretoras, células endocrinas y las células epiteliales de absorción maduras, las cuales toman los nutrientes de la luz y los transportan a la sangre cumpliendo con la función básica del aparato digestivo. Las vellosidades, están formadas por enterocitos maduros, las cuales facilitan la absorción y ocasionales células que secretan moco. Los enterocitos viven sólo por pocos días, mueren y se descaman a la luz para ser parte del contenido intestinal. Las criptas (de Lieberkuhn) son invaginaciones del epitelio alrededor de las vellosidades, y están cubiertas con células epiteliales más jóvenes las cuales están implicadas primariamente en secreción. Hacia la base de las criptas están las células

madre, las cuales continuamente se dividen y proveen la fuente de todas las células epiteliales en las criptas y en las vellosidades (Vasquez, C. 2012).

- **pH cecal.**

La acidez del medio interno del ciego y del colon es un hecho que se produce normalmente en el conejo, pero que no se da en otras especies animales. La mayor parte de las especies animales tienen el intestino con un pH neutro o ligeramente alcalino, no ocurriendo así en el conejo, cuyo intestino posterior tiene curiosamente una reacción acidulada. La regulación del pH no se produce mediante secreciones, sino que es la propia flora normal la que regula las condiciones del medio para controlar el desarrollo de las bacterias patógenas, por lo general minoritarias y vestigiales en condiciones de sanidad digestiva. La reacción ácida del ciego es excepcional entre las especies, el conejo silvestre presenta habitualmente un pH entre 5,7 y 6,0, a base de la presencia de ácidos grasos volátiles generados por la actividad de la propia flora, metabolizando las fracciones fibrosas, poli-isosacáridos, etc. Los ácidos grasos generados en el ciego y colon son reguladores del pH, y a la vez elementos nutritivos asimilados como tales. (Leonart, F. 1999)

- **Enterobacterias y Coliformes totales**

La familia *Enterobacteriaceae* constituye un grupo grande y heterogéneo de bacterias gramnegativas. Reciben su nombre por la localización habitual como saprofitos en el tubo digestivo, aunque se trata de gérmenes ubicuos, encontrándose de forma universal en el suelo, el agua y la vegetación. Así como formando parte de la flora intestinal normal de muchos animales además del hombre. (Rodríguez & García, 2010).

La denominación genérica “coliformes” designa a un grupo de especies bacterianas que tienen ciertas características bioquímicas en común e importancia relevante como indicadores de contaminación del agua y los alimentos. Coliformes, significa con forma de coli, refiriéndose a la bacteria, *Escherichia coli*, descubierta por el bacteriólogo alemán Theodor Von Escherich en 1860 (Muñoz, M. 2009).

### - **Densidad intestinal**

Se estudió la densidad del intestino (peso/longitud) en conejos sin raza definida, se realizó con 34 conejos adultos de 94 días de edad todos con el mismo régimen alimenticio, los resultados obtenidos fueron un promedio de  $23,11 \pm 1,66$  cm, el análisis estadístico no demostró diferencia significativa relativa al sexo. (Amorim, M. et, al. 2002).

### **2.2.3 Conejos**

El conejo común o europeo (*Oryctolagus cuniculus*) pertenece al orden *Lagomorpha*. Su principal aptitud productiva es la cárnica, pues su elevada prolificidad y la brevedad de sus ciclos reproductivos y de engorde le confieren un gran potencial de producción. El cebo o engorde es el periodo comprendido entre el destete y el sacrificio. La edad de sacrificio más frecuente es de unos y dos meses, lográndose pesos vivos medios de alrededor de 2 - 2,2 kg cuando se utilizan líneas selectas. No conviene prolongar el cebo más allá de esta edad porque empeora el índice de conversión y se obtienen canales más grasas. En consecuencia, la duración del cebo está comprendida en la mayoría de las granjas industriales entre 25 y 32 días, al practicarse el destete semiprecoz (González and Caravaca 2003).

En la tabla 2, se señalan algunos requisitos ambientales para el alojamiento de conejos.

**Tabla. 1.** Requisitos ambientales en los alojamientos cunícolas

<b>Parámetros</b>	<b>Maternidad</b>	<b>Engorde</b>
Temperatura, (°C)	16-20	19-22
Humedad relativa, (%)	60-70	60-70

Fuente: (González y Caravaca 2003)

### - **Fisiología digestiva cecal de los conejos**

La fisiología cecal del conejo muestra un problema específico en la patología digestiva relacionada con la nutrición. En este momento, uno de los principales objetivos de los investigadores sobre el metabolismo cecal del conejo, es el de conocerlo y descubrir la influencia de la actividad de la flora microbiana que juega un papel importante en la aparición de problemas digestivos, originados por inadecuado aporte nutritivo. Por otro lado, el ciego participa en la digestión de los nutrientes. Siendo el lugar donde se produce una mayor degradación y fermentación de la fibra. Por ejemplo, en los conejos adultos la absorción de los ácidos grasos volátiles puede representar el 30% del metabolismo basal.

La actividad fermentativa de las bacterias varía de acuerdo a un ritmo diario, produciéndose una baja concentración de ácidos grasos volátiles (menos del 25%) durante el periodo en el que se realiza la cecotrofia, con respecto al alto nivel que alcanzan durante la fase de excreción de las heces duras. Recientemente, estos datos han sido confirmados in vivo, aunque los cambios durante el día en el proceso fermentativo difieren entre los conejos adultos y los gazapos de 6 semanas, lo que indica que no se pueden extrapolar los datos obtenidos en adultos a los gazapos. Este comportamiento de la actividad fermentativa cecal a lo largo del día coincide con un ritmo similar de absorción y metabolización de los ácidos grasos volátiles. El metabolismo ceco-cólico del agua y electrolitos se encuentra igualmente bajo el control de la cecotrofia (Gidenne, T. 1996).

## **CAPÍTULO III**

### **HIPÓTESIS Y OBJETIVOS**

#### **3.1 HIPÓTESIS ALTERNATIVA**

El propóleo estimula positivamente las vellosidades intestinales y mantiene la integridad de la microbiota y pH cecal.

#### **3.2 OBJETIVO GENERAL**

Evaluar el efecto del propóleos sobre las vellosidades intestinales y microbiota cecal en conejos (*Oryctolagus cuniculus*).

#### **3.3 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Evaluar los niveles de administración (25 mg/diario, 37,5 mg/diario) de propóleo sobre los índices morfológicos: alto de las vellosidades, profundidad de las criptas de Lieberkuhn del duodeno y densidad intestinal.
- Determinar los niveles de administración (25 mg/diario, 37,5 mg/diario) de propóleo sobre el pH cecal.
- Establecer los niveles de administración (25 mg/diario, 37,5 mg/diario) de propóleo sobre enterobacterias y coliformes en la microbiota cecal.

## CAPÍTULO IV

### MATERIALES Y MÉTODOS

#### 4.1 UBICACIÓN DEL ENSAYO

El trabajo de investigación se realizó en las instalaciones de la Granja de la Facultad de Ciencias Agropecuarias, ubicada en el sector Querochaca, de la parroquia “La Matriz” del cantón Cevallos provincia de Tungurahua, cuyas coordenadas geográficas corresponden a: 1°25'0'' Sur (latitud) y 78° 36'20'' Oeste (longitud), a una altitud de 2 850 msnm.

#### 4.2 CARACTERIZACIÓN DE LUGAR.

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

**Tabla 2.** Condiciones meteorológicas

<b>Parámetros</b>	<b>Promedio</b>
Intensidad máxima de precipitación (mm/hora)	07,10
Humedad relativa, (%)	87,39
Viento, (km/h)	12,00
Temperatura, (°C)	13,70

Fuente: INAMHI (2013).

#### 4.3 EQUIPOS Y MATERIALES

##### 4.3.1 Material experimental

- 36 Conejos mestizos (NZxC)
- Extracto de propóleo con propilenglicol.

##### 4.3.2 Otros Materiales

- Jaulas
- Comederos
- Bebederos

- Palas
- Carretilla
- Desinfectante
- Balanceado
- Forraje
- Tubos tapa roja
- Fundas
- Guantes de manejo
- Gradillas
- Tubos de ensayo
- Gasas
- Pipetas de 10, 100, 1000 uL
- pHmetro
- Balanza
- Cinta métrica
- Tijeras

#### **4.3.3 Reactivos**

- Solución etanólica
- Propilenglicol
- Formol al 10%
- Solución Salina
- Placas Petrifilm

#### **4.3.4 Equipos**

- Balanza de precisión
- Microscopio
- Incubadora

#### **4.4 FACTORES DE ESTUDIO**

- T0: solución de propilenglicol
- T1: 25 mg de solución de propóleo en propilenglicol.
- T2: 37,5 mg de solución de propóleo en propilenglicol.

#### **4.5 TRATAMIENTOS.**

Se evaluaron tres tratamientos con diez repeticiones para todas las variables, los cuales se presentan en la tabla 3.

#### **4.6 DISEÑO EXPERIMENTAL.**

El diseño experimental que se utilizó fue completamente al azar (DCA). Se realizó el análisis de varianza unidireccional (ANOVA) y la prueba de significación TUKEY 5%. Para comparar grupos de tratamientos se utilizó el método de contrastes ortogonales y al igual que Kruskal - wallis como método no paramétrico.

**Tabla 3.** Número de tratamientos, repeticiones y número de animales distribuidos.

N° Tratamientos		N° Repeticiones	N° de animales
<b>T 0</b>	Solución de propilenglicol (0,75 ml)	R1	1
		R2	1
		R3	1
		R4	1
		R5	1
		R6	1
		R7	1
		R8	1
		R9	1
		R10	1
<b>T 1</b>	Solución de Propóleo 25 mg en propilenglicol 0,75 ml	R1	1
		R2	1
		R3	1
		R4	1
		R5	1
		R6	1
		R7	1
		R8	1
		R9	1
		R10	1
<b>T2</b>	Solución de Propóleo 37,5 mg en propilenglicol 0,75 ml.	R1	1
		R2	1
		R3	1
		R4	1
		R5	1
		R6	1
		R7	1
		R8	1
		R9	1
		R10	1

#### 4.7 VARIABLES RESPUESTA.

##### - Administración de los tratamientos

La alimentación fue la misma para todos los tratamientos. La composición química de las dietas se presenta en la tabla 4.

La administración de propóleo cambiara para cada tratamiento, en T1 se administró 0,5 cc de solución (25 mg propóleo) y 0,25 cc de propilenglicol; la dosificación fue vía oral con ayuda de una jeringa en las mañanas antes de la alimentación, para T2 0,75cc

(37,5 mg de propóleo/propilenglicol) y para el tratamiento T0 solo utilizamos 0,75 cc de propilenglicol.

El experimento duro 45 días, teniendo en cuenta que el efecto aditivo en esta especie, se expresa mejor en la etapa de "pico de crecimiento", ya que las patologías de tipo digestivo son las más comunes, en el pre-destete. Para esto realizamos una adaptación a las condiciones de alojamiento y alimentación durante 7 días.

**Tabla 4.** Composición química de la dieta

Sustratos	T0
Afrecho de trigo	22,1
Maíz	18,3
Soya	10,09
Alfarina	41,3
Aceite de palma	3,8
Melaza	3,8
Fosfato	0,96
Metionina	0,19
Lisina	0,19
Sal	0,4
Vitaminas	0,09
Total Kg	100
<b>Composición química %</b>	
MS	90,3
MO	95,4
PC (%)	16,47
FDN (%)	35,06
Energía (cal/g)	4114,36
Cenizas	0,041

MS: Materia seca, MO: Materia orgánica, PC: Proteína cruda, FDN: Fibra detergente neutral.

#### **4.7.1 Vellosidades intestinales y criptas de Lieberkuhn.**

Se colectó 3 cm del intestino delgado (duodeno). Esta muestra fue lavada con agua destilada y fijada con formol al 10 % durante 48 horas y posteriormente transferida a soluciones con concentraciones crecientes de alcohol, 70,80 y 90%, durante 6 horas en cada contenedor, concluyendo de esta manera el proceso de deshidratación. Seguido se utilizó xiol, durante treinta minutos, durante la impregnación del xiol se sustituye por parafina fundida en una estufa de cultivo a 60°C, una vez impregnado, el tejido se coloca

en un papel a temperatura ambiente, obteniendo los bloques del tejido intestinal. Los cortes de los bloques fueron hechos en un micrótopo con un espesor de 5  $\mu\text{m}$  y las láminas obtenidas fueron trasferidas al equipo termostático a 40°C, posteriormente distendidas en medio acuoso para colocar con ayuda de un cincel en el portaobjetos. Para la coloración, las láminas deben ser desparafinados en una estufa a 60° C por 30 minutos y colocados en contenedores de xiol (5 minutos), luego sumergimos en solución decreciente de alcohol a 90, 80, 70 %. Los cortes fueron coloreados por la solución acuosa de hematoxilina durante un minuto y medio y dejados en agua común por cinco minutos. Posteriormente, fueron puestos en solución eosina por tres minutos e hidratadas nuevamente. Una nueva deshidratación se realiza con solución creciente de alcohol, por dos minutos cada una y durante 5 minutos en xiol. Se recubre la lámina con resina (balsamo), para poder recubrir con el cubreobjetos. Para evaluar la altura de la vellosidad, profundidad de la criptas se realizó mediante microscopia electrónica según (Simas, et al., 2016).

#### **4.7.2 pH cecal.**

Inmediatamente eviscerado los conejos se tomó el ciego, en el cual se realizó una incisión en la porción caudal del apéndice vermiforme, y se colocó un medidor de pH.

#### **4.7.3 Conteo de enterobacterias y coliformes.**

Se obtuvo muestras del contenido cecal, un gramo, las cuales fueron colocadas en nueve mililitros de solución salina estéril. Preparamos 4 tubos de ensayo con 9 mililitros de solución salina cada una, rotulamos los tubos ( $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ ), con ayuda de las pipetas, tomamos un mililitro de muestra ( $10^{-1}$ ), y traspasamos al tubo de ensayo ( $10^{-2}$ ), homogenizamos, tomamos un mililitro y colocamos en el siguiente tubo ( $10^{-3}$ ), de igual forma homogenizamos y realizamos el mismo procedimiento hasta el tubo ( $10^{-4}$ ). Colocamos en una superficie plana las placas 3M™ Petrifilm™ para *Enterobacteriaceae* y Coliformes, levantamos el film superior y con ayuda de una pipeta

colocamos en una forma perpendicular un mililitro de muestra ( $10^{-4}$ ) en el centro, bajamos el film superior con cuidado, evitando introducir burbujas de aire, ejercemos presión sobre las placas con ayuda del aplicador y esperamos un minuto hasta que el gel se solidifique. Colocar en la incubadora no más de 20 placas cara arriba, durante 24 horas a 37 °C. Utilizamos un contador de colonias, se cuenta las colonias rojas con gas o sin gas (coliformes), las enterobacterias producen colonias rojas con zonas ácidas de color amarillo. (Torres, M, 2003).

#### **4.7.4 Densidad Intestinal**

Se evisceraron a los conejos, cortamos el intestino delgado desde el píloro hasta la válvula ileocecal obteniendo el duodeno, yeyuno e íleon, también se pesó porciones intestinales vacías. Se colocó sobre un plano horizontal y se midió con ayuda de una cinta métrica su longitud, este se realizó dentro de las 5 primeras horas después del sacrificio. (Amorim, M, et al, 2002).

### **4.8 PROCESAMIENTO DE LA INFORMACIÓN**

El programa estadístico utilizado para el procesamiento de la información fue SPSS v.23, 2017. Para las variables de distribución normal ANOVA y para la variable de conteo de UFC en bacterias Kruskal Wallis.

## CAPÍTULO V

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 5.1 RESULTADOS Y DISCUSION.

##### 5.1.1 Vellosidades intestinales

##### **Altura y profundidad de las criptas de Lieberkuhn.**

Se pudo determinar que no existe diferencia estadística entre los tratamientos analizados, éstos resultados difieren con lo manifestado por Castillo y Pacheco, (2016), quienes en lo referente a morfología intestinal encontraron diferencia significativa a los 42 días de edad en la altura de la vellosidad en pollos de engorde suministrando propóleo en la dieta (tabla 5). Sin embargo, se puede apreciar un ligero incremento entre el tratamiento T2 respecto al control, el tratamiento de dosis intermedia posee menos altura en las vellosidades lo cual puede asociarse a las diarreas sufridas por este grupo, resultado obtenido por Diaz, P y Saquina, R., (2017). Probablemente esto se deba a que se produce una disfunción electrolítica, producción de enterotoxinas, y como consecuencia, un aplanamiento de las vellosidades y destrucción de la función celular normal. (Riverón C, 1999).

**Tabla 5.** Comparación de la Altura y profundidad de criptas de Lieberkuhn del yeyuno en conejos tratados con EEP.

	T0	T1	T2	C.V	EE	p-valor
Altura (mm)	0,95	0,89	1,00	12,51	0,04	0,1237
Profundidad (mm)	0,11	0,12	0,12	15,95	0,01	0,3208

E.E: error estándar de la media. . CV: coeficiente de variación. T0: propilenglicol. T1: propóleo 25 mg. T2: propóleo 37,5 mg. ANOVA.

### 5.1.2 pH cecal

Los resultados obtenidos muestran que la aplicación de EEP no modificó el pH del contenido cecal, manteniéndose dentro de los parámetros registrados para la especie. Aunque, se observó un ligero incremento en los grupos tratados (tabla 6), lo cual concuerda con Coloni et al., (2007) que obtuvo como resultado que los pH cecales de los conejos fueron similares entre tratamientos T1 (6,63), T2 (6,54), T3 (6,52), T4 (6,58); cuando se suministró extracto etanólico de propóleo (EEP) por vía oral junto con una dieta de crecimiento. Esto se debió posiblemente a la presentación de diarreas en el grupo T1 (Diaz, P. y Saquina, R., 2017), que permitieron el paso acelerado de fibra y proteína al ciego, contribuyendo un aumento de pH, Anon, (1994) provocando además una disfunción electrolítica y destrucción de la función celular normal (Riverón, C 1999)

**Tabla 6.** Comportamiento del pH cecal en conejos tratados con EEP.

Parámetro	Tratamientos				EE	p-valor
	T0	T1	T2	C.V		
pH	6,62	6,74	6,70	2,12	0,04	0,1427

EE: error estándar de la media. . CV: coeficiente de variación. T0: propilenglicol. T1: propóleo 25 mg. T2: propóleo 37,5 mg

### 5.1.3 Densidad intestinal

La densidad intestinal no muestra significancia estadística en su comportamiento entre grupos, esto está en correspondencia con lo obtenido por algunos investigadores que realizaron mediciones intestinales en 34 conejos sin raza definida, sometidos todos a un mismo régimen alimenticio (Marleyne. J y Valdemoro, 2002). Aunque el tratamiento de menor dosis muestra una mayor densidad, podría deberse a que el EEP modula al sistema inmunológico según Eyng et al. (2014), penetrando los antígenos luminales en la mucosa intestinal y alcanzar el GALT (Tejido linfoide asociado al intestino); la

membrana apical presente en la células M que se encuentran en las placas de peyer adhieren y captan las macro moléculas (Ramiro, P., et al. 2008). Todo esto hace que aumente la densidad intestinal como respuesta a alteraciones inflamatorias y de defensa en general.

**Tabla 7.** Densidad intestinal en conejos tratados con diferentes niveles de EEP en la dieta.

Parámetro	Tratamientos			C.V	EE	p-valor
	T0	T1	T2			
Densidad	0,17	0,19	0,17	16,48	0,01	0,0299

EE: error estándar de la media. . CV: coeficiente de variación. T0: propilenglicol. T1: propóleo 25 mg. T2: propóleo 37,5 mg

#### 5.1.4 Recuento de enterobacterias y coliformes

Se puede apreciar una reducción significativa de las unidades formadoras de colonias (UFC/g) tanto de enterobacterias como coliformes totales en los dos grupos tratados T1 (25 mg), T2 (37 mg) con respecto al tratamiento T0. En una investigación realizada por Diaz y Rios, (2017), de muestra su efecto bacteriostáticos, al enfrentar al EEP (in vitro) frente a *Salmonella enteritidis* ATCC 13076, *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Klebsiella pneumoniae* ATCC 33495, donde su efecto inhibitorio fue mejor en concentraciones de (5%, 10%, 7,5%); a medida que aumenta la concentración del EEP no hubo efecto inhibitorio. Teniendo en cuenta, que la salud intestinal depende de su mecanismo metabólico (microbiota) y su alteración puede ocasionar perturbaciones digestivas Castillo y Pacheco (2016). La reducción bacteriana presente en los grupos tratados con EEP (tabla 8 y 9), tuvo un efecto benéfico, ya que en una investigación previa donde se evaluaron 36 conejos (NZxC), obtuvieron resultados significativos en la ganancia de peso y conversión alimenticia al suministrar 37 mg/día de EEP (T2), en forma oral con respecto al grupo T0 y T1 (Diaz, P. y Saquina R., 2017).

**Tabla 8.** Evaluación de Enterobacterias en conejos tratados con diferentes concentraciones de EEP.

Grupos	Medias UFC/g (D.E)	Rangos promedios	Nivel significación p<0.05
T0	7,26 x 10 <sup>5</sup> (2,23 x 10 <sup>5</sup> ) b	22,55	S
T1	6,12 x 10 <sup>5</sup> (2,45 x 10 <sup>5</sup> ) a	12,00	S
T2	5,58 x 10 <sup>5</sup> (0,88 x 10 <sup>5</sup> ) a	13,68	S

T0: propilenglicol. T1: propóleo 25 mg. T2: propóleo 37, 5 mg. (Kruskal Wallis) (x10<sup>5</sup>)

**Tabla 9.** Evaluación de Coliformes en conejos tratados con diferentes concentraciones de EEP.

Grupos	Medias UFC/g (D.E)	Rangos promedios	Nivel significación p<0.05
T0	6,25 x 10 <sup>5</sup> (1,89 x 10 <sup>5</sup> ) b	23,25	S
T1	5,03 x 10 <sup>5</sup> (1,85 x 10 <sup>4</sup> ) a	10,20	S
T2	4,84 x 10 <sup>5</sup> (1,01 x 10 <sup>5</sup> ) a	14,68	S

T0: propilenglicol. T1: propóleo 25 mg. T2: propóleo 37, 5 mg. (Kruskal Wallis) (x10<sup>5</sup>)

## **CAPÍTULO VI**

### **6.1 CONCLUSIONES**

Se determinó que la inclusión de propóleo a dosis de 37,5 mg/día, provocó un ligero aumento de la altura y la profundidad de las vellosidades intestinales, aunque estadísticamente no fue significativo. La densidad intestinal no tuvo diferencias entre tratamientos, mostrándose ligeramente superior en el tratamiento con menor dosis, probablemente a causa de diarreas presentadas en este grupo al momento de la toma de muestra.

Las diferentes dosis no produjeron cambios sustanciales en el comportamiento del pH cecal observándose los valores dentro de los parámetros normales con una ligera tendencia a alcalinización.

El presente ensayo muestra que, la adición de 25 mg/día y 37,5 mg/día de extracto etanólico de propóleo disminuye significativamente la población de enterobacterias y coliformes.

## 6.2 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abdel-Maged, Afaf D., Nagwa E. Ahmed, and M. A. Elashrey. 2013. "Biochemical Effects of Anti Protozoa on Gastrointestinal Tract Enzymes and Related Hormones in Rabbits." *Benha Veterinary Medical Journal* 25(4):113–24.
- Aguavil, J. 2012. "Evaluación Del Efecto de Un Probiótico Nativo Elaborado En Base a *L. Acidophilus* Y *B. Subtilis* Sobre El Sistema Gastrointestinal En Pollos Broiler Ross-308 En Santo Domingo de Los Tsáchilas."
- Anon. 1994. "rabbistat : Nuevo Acidificante Regulador Cecal Para Conejos." *Boletín de Cunicultura* 50. Retrieved (<http://scielo.sld.cu/pdf/ped/v71n2/ped05299.pdf>).
- Anon. 2014. "Mucosa of Laying Hens Fed Diets Containing Xylanase." *Performance and Morphometry of the Intestinal Mucosa of Laying Hens Fed Diets Containing Xylanase*.
- Astudillo, Avilar, Morrison, Gutierrez, Bastida, Cidina, y Schmeda-Hirschmann. 2000. "Composicion Del Propoleo Astudillo." *Boletín de La Sociedad Chilena de Química* 45.
- Ayoola, Ayuub A., Ramon D. Malheiros, Jesse L. Grimes, Peter R. Ferket, and Ryan Arsenault. 2015. "Effect of Dietary Exogenous Enzyme Supplementation on Enteric Mucosal Morphological Development and Adherent Mucin Thickness in Turkeys." 2(October):1–8.
- Cabriales, V. C. Tinoco, J. A. Quesada Castillo, M. A. Maldonado Ramírez, R. Oliver Parra, and B. A. Luna Gojon. 2013. "Leukocyte Death Incited by Propolis Toxicity." *Revista Odontológica Mexicana* 17:161–65.
- Capucho, Cristina et al. 2012. "Green Brazilian Propolis Effects on Sperm Count and Epididymis Morphology and Oxidative Stress." *Food and Chemical Toxicology* 50(11):3956–62.
- Carrión, M. 2016. "Efecto del consumo de propóleo sobre parámetros zootécnicos en pollos de engorde en el municipio de fusagasugá."

- Castillo, Gabriela and Cristhian Pacheco. 2016. “Efecto Del Extracto Etanólico De Propóleo Sobre La Microflora Bacteriana, Morfometría De Velloidades Intestinales Y Comportamiento Productivo, En Pollos De Engorde.”
- Cayuela, Maribel and Juan Serrano. 2003. “Propóleo : Aplicaciones.” Retrieved (<https://doi.org/11059/7463/636085A532>).
- Coloni, Rodrigo Dias et al. 2007. “Extrato Etanólico de Própolis Sobre O Ganho de Peso , Parâmetros de Carça E pH Cecal de Coelhos Em Crescimento Material E Métodos.” *Biotemas* 20(2):59–64.
- Del Riego, H. 2009. Determinación, Contenido de fenoles, y evaluación del propoleo. Disponible En: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=169813261013>.” *Scielo* 9. Retrieved (<http://www.redalyc.org/pdf/1698/169813261013.pdf>).
- Diaz, P; Rommel, R. 2017. “Caracterización Físico Química, Antibacteriana y Antioxidante de Propóleo de Melipona ebúrnea de la Región Amazónica”. Repositorio Universidad Técnica de Ambato Disponible en: <http://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/26403/1/Tesis%20104%20Medicina%20Veterinaria%20y%20Zootecnia%20-CD%20525.pdf>
- Diaz, P; Saquinga, R. 2017. Efecto de un propóleo de origen amazónico sobre los parámetros bio-productivos en conejos (*Oryctolagus cuniculus*). Repositorios Universidad Técnica de Ambato. Disponible en: <http://repositorio.uta.edu.ec/jspui/bitstream/123456789/26284/1/Tesis%2094%20Medicina%20Veterinaria%20y%20Zootecnia%20-CD%20505.pdf>
- Eyng, C. et al. 2015. “Efecto de La Inclusión dietética de Extracto Etanólico de Propóleos En La Inmunidad de Pollos de Engorde.” *Archivos de Medicina Veterinaria* 47(2):185–92.
- Eyng, C., A. E. Murakami, C. R. A. Duarte, and T. C. Santos. 2014. “Effect of Dietary Supplementation with an Ethanolic Extract of Propolis on Broiler Intestinal Morphology and Digestive Enzyme Activity.” *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 98(2):393–401.
- Fiallos, Hugo. 2009. “proyecto de factibilidad para el establecimiento de una empresa

productora de conejos en la sierra – centro del ecuador.” universidad técnica de ambato.

- Gidenne, T. 1996. “Fisiología Digestiva Cecal Y Factores Que La Influencian.” y “Physicochemical Characterization and Antimicrobial Activity of Propolis from Municipality of La Union ( Antioquia , Colombia ) (33):13.
- Giral, Tereza. 2001. “Producción, Cosecha, Manejo Poscosecha, Caracterización de Propóleos Y Forma de Empleo En La Terapia de Diferentes Enfermedades.” Pp. 25–38 in *IV Seminario Internacional de Abeja Africanizada, VIII Encuentro de Apicultores*, vol. 0. Medellin- Colombia.
- González, P. and F. Caravaca. 2003. *Producción De Conejos De Aptitud Cárnica*. Retrieved ([http://www.uco.es/zootecniaygestion/img/pictorex/09\\_10\\_34\\_Cunicultura.pdf](http://www.uco.es/zootecniaygestion/img/pictorex/09_10_34_Cunicultura.pdf)).
- Hernández, D., & P, M. A. C. (2012). celulolíticas y totales del apéndice cecal , ciego y colon del conejo a, pp. 229–236.
- Lana, Rogério De Paula et al. 2007. “Revista Brasileira de Zootecnia Óleo de Soja E Própolis Na Alimentação de Cabras Leiteiras : Consumo de Matéria Seca E de Nutrientes E Parâmetros de Fermentação Ruminal 1 Soybean Oil and Propolis in the Diets of Dairy Goats : Intake of Nutrients and Rumin.” *Revista Brasileira de Zootecnia* 36:191–97.
- Lleonart, F. 1999. “genex lap : la regulacion más natural del intestino del conejo.”
- M. C. Oscar Martínez, M. C. Arturo Pro y Dr. Carlos Becerril. n.d. *La Cría de Conejo a Pequeña Escala*. Retrieved (file:///C:/Users/Danny/Desktop/danny conejos/La cria de Conejo.pdf).
- Mirzoeva OK, Grishanin RN, Calder PC. 1997. “Antimicrobial Action of Propolis and Some of Its Components: The Effects on Growth, Membrane Potential and Motility of Bacteria.” *Microbiol Res.* 152:239–46.
- Moposita, Liliana. 2014. ““ Estudio de Prefactibilidad Para La Producción Y Comercialización de Carne de Conejo ( Oryctolagus Cuniculus ) En La Sierra Centro Del Ecuador ’ Liliana Verónica Tipantasig Moposita.” universidad san

francisco de quito.

- Muñoz Rodríguez, Luis, Sergio Linares Villalba, and William Narváez Solarte. 2011. "Propiedades Del Propóleo Como Aditivo Natural Funcional En La Nutrición Animal Propolis Properties As Funtional Natural Additive on Animal Nutrition." *Biosalud* (2):101–11.
- Nassar, Somya a., Amira H. Mohamed, Hamdy Soufy, Soad M. Nasr, and K. M. A. Mahran. 2012. "Immunostimulant Effect of Egyptian Propolis in Rabbits." *The Scientific World Journal* 2012:1–9.
- Pelicano, E. R. L., P. A. Souza, H. B. A. Souza, D. F. Figueiredo, and C. M. C. Amaral. 2007. "Morphometry and Ultra-Structure of the Intestinal Mucosa of Broilers Fed Different Additives." *Revista Brasileira de Ciencia Avicola* 9(3):173–80.
- Peña, Raúl C. 2008. "Estandarización En Propóleos : Antecedentes Químicos Y Biológicos." *Pontifi Cia Universidad Católica de Chile, Facultad Agronomía E Ingeniería Forestal, Casilla 306-22, Santiago, Chile* 35(1):17–26. Retrieved (www.rcia.puc.cl).
- Perez Arquillue, Consuelo and Fuensila Jimeno. 1987. "El Propoleos de Las Abejas." *Hojas Divulgadoras Nùm. 7/87:2-3-*.
- Pourakbari, Mohammadreza, Alireza Seidavi, Leila Asadpour, and Andrés Martínez. 2016. "Probiotic Level Effects on Growth Performance, Carcass Traits, Blood Parameters, Cecal Microbiota, and Immune Response of Broilers." *Anais Da Academia Brasileira de Ciencias* 88(2):1011–21.
- Qureshi, Saim et al. 2016. "Histomorphological Studies of Broiler Chicken Fed Diets Supplemented with Either Raw or Enzyme Treated Dandelion Leaves and Fenugreek Seeds." *Veterinary Wordl* 9:269–75.
- Ramiro-Puig, E., F. J. Pérez-Cano, C. Castellote, A. Franch, and Margarida Castell. 2008. "El Intestino: Pieza Clave Del Sistema Inmunitario." *Revista Espanola de Enfermedades Digestivas* 100(1):29–34.
- Riverón, C. Raúl L. 1999. "Fisiopatología de La Diarrea Aguda." *Revista Cubana de Pediatría* 71(2):86–115. Retrieved

(<http://scielo.sld.cu/pdf/ped/v71n2/ped05299.pdf>).

- Rodríguez, Mateos and Puerta García. 2010. “A. Puerta-García Y F. Mateos-Rodríguez.” 10(51).
- Sakr, O. G. et al. 2012. “Métodos De Sincronización De Celo En Conejas Primiparas Lactantes a 25 Días Post-Parto.” *Rccv* 6(1):6–13.
- Simas, Thiago, De Oliveira Moreira, Karolyna Oliveira Marques, and Kátia Cyrene Guimarães. 2016. “Acta Scientiarum Duodenal Histology and Carcass Quality of Feedlot Cattle Supplemented with Calcium Butyrate and Bacillus Subtilis.” 61–67.
- Toledo G, Costa P, Silva L, Pinto D, Ferreira P, Poletto C. 2007. “Desempenho de Frangos de Corte Alimentados Com Dietas Contendo Antibiótico E/ou Fitoterápico Como Promotores, Adicionados Isoladamente Ou Associados.” *Cienc Rural* 37:1760–1764.
- Torres, M. 2003. “3M Petrifilm Guía de Interpretación TM.” 143–150. Disponible: [http://www.mag.go.cr/rev\\_agr/v01n02\\_143.pdf](http://www.mag.go.cr/rev_agr/v01n02_143.pdf)
- Vasquez, C. 2012. *vellosidades, criptas y el ciclo de vida de los enterocitos*. Retrieved (<http://www.saber.ula.ve/bitstream/123456789/32969/15/Lectura6.pdf>).
- Velazquez, M . et al. 2015. “Original Articles Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias Feeding Propolis or Essential Oils ( Cashew and Castor ) to Bulls :” *Redalyc* 29.
- Vega, M. Barrio, L.A. Quintela, J.J. Becerra, J. Cainzos, A.Prieto and A.Rodríguez-Zamora y P. G. Herradón. 2012. ““ Review ’: Evolución Del Manejo Reproductivo En Cunicultura.” *RESEARCHGATE* 108(November 2014):172–90.
- Zavarize, Kc, Jr Sartori, E. Gonzales, and Ac Pezzato. 2012. “Morphological Changes of the Intestinal Mucosa of Broilers and Layers as Affected by Fasting before Sample Collection.” *Revista Brasileira de Ciência Avícola* 14(1):21–25.

## 6.3 ANEXOS

### Anexo 1. Análisis de varianza de Altura y Profundidad intestinal

#### Medida V.I Altura (mm)

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Medida V.I Altura (mm)	31	0,06	0,00	27,00

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

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Tratmiento	0,12	2	0,06	0,87	0,4311
Error	1,86	28	0,07		
Total	1,98	30			

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Medida V.I profundidad cri..	31	0,05	0,00	18,39

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

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Tratmiento	6,1E-04	2	3,1E-04	0,69	0,5089
Error	0,01	28	4,4E-04		
Total	0,01	30			

### Anexo 2. Prueba de significación de Tukey al 5% para Altura y Profundidad Intestinal

#### ALTURA

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,28096

Error: 0,0665 gl: 28

Tratmiento	Medias	n	E.E.
0,00	0,90	10	0,08 A
1,00	0,92	10	0,08 A
2,00	1,04	11	0,08 A

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

#### Profundidad

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,02288

Error: 0,0004 gl: 28

Tratmiento	Medias	n	E.E.
0,00	0,11	10	0,01 A
2,00	0,11	11	0,01 A
1,00	0,12	10	0,01 A

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

### Anexo 3. Prueba de contraste para Altura y Profundidad intestinal

#### Contrastes

Propoleo	Contraste	E.E.	SC	gl	CM	F	p-valor
Contraste1	4,6E-03	0,01	1,1E-04	1	1,1E-04	0,26	0,6173
Contraste2	-0,02	0,02	5,1E-04	1	5,1E-04	1,16	0,2912
Total			6,1E-04	2	3,1E-04	0,69	0,5089

#### Coefficientes de los contrastes

Propoleo	Ct.1	Ct.2
0,00	-1,00	1,00
25,00	0,00	-2,00
37,50	1,00	1,00

### Anexo 4. Análisis de varianza de Peso y Longitud intestinal

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Peso V (gr)	31	3,4E-04	0,00	20,92

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

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Tratamiento	1,16	2	0,58	4,7E-03	0,9953
Error	3433,24	28	122,62		
Total	3434,40	30			

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Longitud (cm)	31	0,09	0,03	24,17

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

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Tratamiento	15687,37	2	7843,68	1,43	0,2562
Error	153560,18	28	5484,29		
Total	169247,55	30			

## Anexo 5. Prueba de significación de Tukey al 5% para Peso y Longitud intestinal

### Peso

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=12,06611

Error: 122,6157 gl: 28

tratamiento	Medias	n	E.E.
2,00	52,68	11	3,34 A
1,00	53,07	10	3,50 A
0,00	53,08	10	3,50 A

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

### Longitud

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=80,69646

Error: 5484,2922 gl: 28

Tratamiento	Medias	n	E.E.
1,00	274,20	10	23,42 A
0,00	317,40	10	23,42 A
2,00	325,73	11	22,33 A

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

## Anexo 6. Prueba de contraste para Peso y Longitud intestinal

### Contrastes

Propoleo	Contraste	E.E.	SC	gl	CM	F	p-valor
Contraste1	8,33	32,36	363,23	1	363,23	0,07	0,7988
Contraste2	94,73	56,93	15185,51	1	15185,51	2,77	0,1073
Total			15687,37	2	7843,68	1,43	0,2562

### Coefficientes de los contrastes

Propoleo	Ct.1	Ct.2
0,00	-1,00	1,00
25,00	0,00	-2,00
37,50	1,00	1,00

## Anexo 7. Análisis de varianza de pH cecal

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
pH	31	0,13	0,07	2,12

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

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
tratamiento	0,08	2	0,04	2,09	0,1427
Error	0,56	28	0,02		
Total	0,64	30			

## Anexo 8. Prueba de significación de Tukey al 5% para pH cecal

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,15422

Error: 0,0200 gl: 28

Tratamiento	Medias	n	E.E.
0,00	6,62	10	0,04 A
2,00	6,70	11	0,04 A
1,00	6,74	10	0,04 A

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

## Anexo 9. Prueba de contraste para pH cecal

### Contrastes

Propoleo	Contraste	E.E.	SC	gl	CM	F	p-valor
Contraste1	0,09	0,06	0,04	1	0,04	2,01	0,1675
Contraste2	-0,16	0,11	0,05	1	0,05	2,28	0,1421
Total			0,08	2	0,04	2,09	0,1427

### Coefficientes de los contrastes

Propoleo	Ct.1	Ct.2
0,00	-1,00	1,00
25,00	0,00	-2,00
37,50	1,00	1,00

## Anexo 10. Análisis de normalidad Enterobacterias y coliformes

Tratamientos Enterobacterias	Kolmogorov - Smirnov			Shapiro - Wilk		
	Estadístico	<u>G</u> <u>l</u>	Sig.	Estadístico	<u>g</u> <u>l</u>	Sig.
T0	0,270	10	0,037	0,704	10	0,001
T1	0,316	10	0,005	0,623	10	0,000
T3	0,162	11	0,200*	0,938	11	0,492

\*Estos es un límite inferior de la simplificación verdadera, a. Corrección de significación de Lilliefors

Tratamientos Coliformes	Kolmogorov - Smirnov			Shapiro - Wilk		
	Estadístico	<u>G</u> <u>l</u>	Sig.	Estadístico	<u>g</u> <u>l</u>	Sig.
T0	0,369	10	0,000	0,602	10	0,000
T1	0,406	10	0,000	0,565	10	0,000
T3	0,189	11	0,200*	0,887	11	0,129

\*Estos es un límite inferior de la simplificación verdadera, a. Corrección de significación de Lilliefors

## Anexo 11. Prueba de Kruskal Wallis Enterobacterias y Coliformes

Tratamiento Coliformes	N	Rango Promedio
T0	10	23,25
T1	10	10,20
T2	11	14,68
Total	31	

Tratamiento Enterobacterias	N	Rango Promedio
T0	10	22,55
T1	10	12,00
T2	11	13,68
Total	31	

**Anexo 12. Preparación del propóleo y obtención de extracto**



**Anexo 13. Preparación de las Instalaciones FCAGR**



**Anexo 14. Toma de pesos iniciales.**



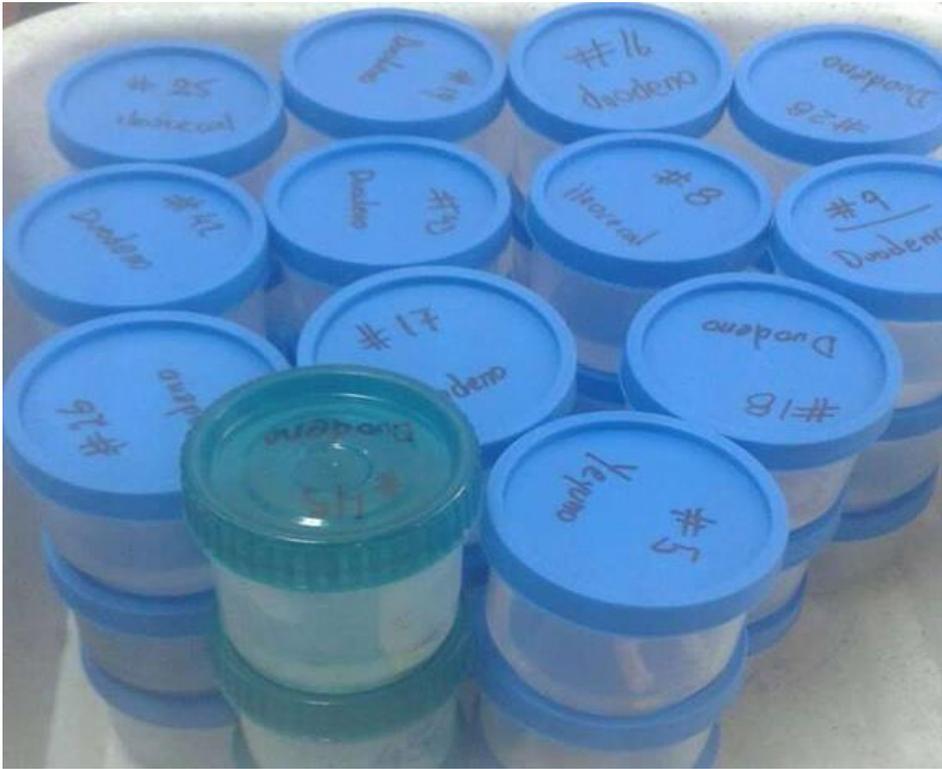
**Anexo 15. Administración del extracto**



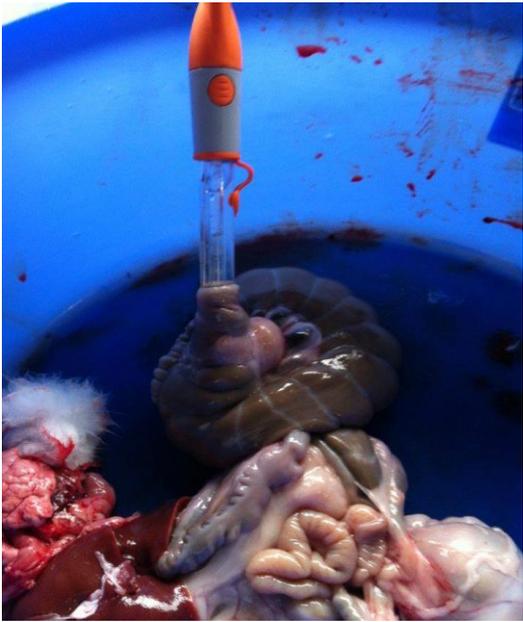
**Anexo 16. Elaboración del balanceado**



**Anexo 17. Recolección de muestras para histología.**



**Anexo 18. pH cecal**



**Anexo 19. Conteo de colonias en placas petrifilm.**



## Anexo 20. Análisis de histología altura intestinal



### CENTRO DE DIAGNÓSTICO CLÍNICO VETERINARIO "ANIMALAB CIA. LTDA."

Direc.: Av. Pablo Guarderas y Mariana de Jesús  
Telfs.: Of. 022314376 / Cel.: 0984 484 385 / 0997 984 371 • Mail: c.d.c.v.animalab@hotmail.com  
Machachi - Ecuador

**INFORME DE RESULTADOS**

Código: R POE AB- 19.01  
Revisión: 03  
Fecha de Aprobación: 2016-02-04

No DE CASO: A-0525-2017  
CÓDIGO: P1-003-2017

<b>Fecha de recepción:</b>	Domingo, 18 de junio del 2017	<b>TELÉFONO:</b>	0995168169
<b>Fecha de realización:</b>	Domingo, 18 de junio del 2017	<b>UBICACIÓN:</b>	Tungurahua-Ambato-Cevallos
<b>Fecha de entrega:</b>	Lunes, 26 de junio del 2017	<b>MAIL:</b>	dani_alex66@hotmail.com
<b>PROPIETARIO:</b>	Sr. Dani Punina	<b>RESPONSABLE:</b>	M.VZ Hernán Calderón
<b>RUC:</b>	1722588710	<b>RAZA:</b>	Varias Razas
<b>HACIENDA:</b>	Universidad Técnica de Ambato	<b>SEXO:</b>	Machos/Hembras
<b>SOLICITANTE:</b>	Sr. Dani Punina	<b>TIPO DE MUESTRA:</b>	Placas
<b>ESPECIE:</b>	Canicola		
<b>EDAD:</b>	2 Meses		
<b>N° DE MUESTRAS:</b>	31		
<b>PRUEBAS SOLICITADAS:</b>	Histología + Medición de velocidades de intestino		
<b>METODO:</b>			
<b>TÉCNICO QUE TOMO LA MUESTRA:</b>	Muestra proporcionada por el cliente		
<b>OBSERVACION:</b>			

### EXAMEN HISTOLÓGICO

N°	IDENTIFICACION	RAZA	SEXO	EDAD	MEDIDA	OBSERVACIÓN
1	1	Neozelandes	M/H	2 Meses	11 mm.	Normal
2	2	Californiano	M/H	2 Meses	12 mm.	Normal
3	3	Neo-california	M/H	2 Meses	10 mm.	Normal
4	4	Neo-california	M/H	2 Meses	10 mm.	Normal
5	5	Neo-california	M/H	2 Meses	14 mm.	Normal
6	6	Neo-california	M/H	2 Meses	08 mm.	Normal
7	7	Neo-california	M/H	2 Meses	18 mm.	Normal
8	8	Neo-california	M/H	2 Meses	12 mm.	Normal
9	9	Neo-california	M/H	2 Meses	04 mm.	Normal
10	10	Neo-california	M/H	2 Meses	08 mm.	Normal
11	11	Neo-california	M/H	2 Meses	09 mm.	Normal
12	12	Neo-california	M/H	2 Meses	08 mm.	Normal
13	13	Neo-california	M/H	2 Meses	09 mm.	Normal
14	14	Neo-california	M/H	2 Meses	08 mm.	Normal
15	16	Neo-california	M/H	2 Meses	04 mm.	Normal
16	17	Neo-california	M/H	2 Meses	09 mm.	Normal
17	18	Neo-california	M/H	2 Meses	10 mm.	Normal
18	19	Neo-california	M/H	2 Meses	10 mm.	Normal
19	20	Neo-california	M/H	2 Meses	11 mm.	Normal
20	21	Neo-california	M/H	2 Meses	10 mm.	Normal
21	23	Neo-california	M/H	2 Meses	08 mm.	Normal

SGC ANIMALAB ISO/ IEC 17025:2005

## Anexo 21. Análisis de histología profundidad de las criptas de Lieberkuhn



**CENTRO DE DIAGNÓSTICO CLÍNICO VETERINARIO**  
**“ANIMALAB CIA. LTDA.”**

Direc.: Av. Pablo Guarderas y Mariana de Jesús  
 Telfs.: Of. 022314376 / Cel.: 0984 484 385 / 0997 984 371 • Mail: c.d.c.v.animalab@hotmail.com  
 Machachi - Ecuador

**M.V.Z. Hernán Calderón**  
 Director ANIMALAB

Código: R POE AB- 19 01  
 Revisión: 04  
 Fecha de Aprobación: 2017 - 07 - 03

No. DE CASO: A-0525-2017  
 CÓDIGO: H3-009-2017

**INFORME DE RESULTADOS**

Fecha de recepción de muestras: Sábado, 07 de octubre del 2017  
 Fecha de realización de ensayos: Martes, 31 de octubre del 2017  
 Fecha de finalización de ensayos: Martes, 31 de octubre del 2017  
 Fecha de entrega de resultados: Miércoles, 01 de noviembre del 2017

PROPIETARIO:	Sr. Dani Punina	TELÉFONO:	0995168169
RUC:	1722588710	UBICACIÓN:	Tungurahua-Ambato-Cevallos
HACIENDA:	Ambato	MAIL:	dani_alex66@hotmail.com
SOLICITANTE:	Sr. Dani Punina	RESPONSABLE:	M.V.Z. Hernán Calderón
ESPECIE:	Canícola	TIPO DE MUESTRA:	Placa
Nº DE MUESTRAS:	31		
PRUEBAS SOLICITADAS:	Histología + Medición de vellocidades de intestino		
METODO:			
TÉCNICO QUE TOMO LA MUESTRA:	Muestra proporcionada por el cliente		
OBSERVACIÓN:			

**EXAMEN HISTOLÓGICO**

Nº	IDENTIFICACION	RAZA	SEXO	EDAD	PROFUNDIDAD	OBSERVACION
1	1	Neozelandés	M/H	2 Meses	0,12	NORMAL
2	2	Californiano	M/H	2 Meses	0,14	NORMAL
3	3	Neo-california	M/H	2 Meses	0,1	NORMAL
4	4	Neo-california	M/H	2 Meses	0,12	NORMAL
5	5	Neo-california	M/H	2 Meses	0,12	NORMAL
6	6	Neo-california	M/H	2 Meses	0,1	NORMAL
7	7	Neo-california	M/H	2 Meses	0,14	NORMAL
8	8	Neo-california	M/H	2 Meses	0,1	NORMAL
9	9	Neo-california	M/H	2 Meses	0,14	NORMAL
10	10	Neo-california	M/H	2 Meses	0,1	NORMAL
11	11	Neo-california	M/H	2 Meses	0,14	NORMAL
12	12	Neo-california	M/H	2 Meses	0,14	NORMAL
13	13	Neo-california	M/H	2 Meses	0,14	NORMAL
14	14	Neo-california	M/H	2 Meses	0,1	NORMAL
15	16	Neo-california	M/H	2 Meses	0,13	NORMAL
16	17	Neo-california	M/H	2 Meses	0,14	NORMAL
17	18	Neo-california	M/H	2 Meses	0,1	NORMAL
18	19	Neo-california	M/H	2 Meses	0,08	NORMAL
19	20	Neo-california	M/H	2 Meses	0,09	NORMAL
20	21	Neo-california	M/H	2 Meses	0,1	NORMAL

7,04

S.G.C. ANIMALAB ISO / IEC 17025:2005

## **CAPÍTULO VII**

### **7.1 PROPUESTA**

“Implementar el propóleo en la producción cunícola”.

### **7.2 DATOS INFORMATIVOS**

Las instituciones involucradas en la presente propuesta será la Facultad de Ciencias Agropecuarias, Carrera de Medicina Veterinaria y Zootecnia, explotaciones canículas y apicultores de la provincia de Tungurahua, como responsables de circular los resultados obtenidos en la investigación, para que sean beneficiados con el aporte terapéutico del propóleo.

### **7.3 ANTECEDENTES DE LA PROPUESTA**

Al administrar propóleo a dosis de 37,5 mg, se obtuvo un ligero aumento en la altura de las vellosidades y en profundidad de las criptas de Lieberkung. Lo cual mejora la absorción de nutrientes, y posiblemente también se obtenga resultados estadísticamente significativos si se aumenta la dosis.

## **7.4 JUSTIFICACIÓN**

Desde 1960, se ha utilizados como promotores de crecimiento a los antibióticos, siendo un aliado muy importante para mejorar los rendimientos productivos y así poder competir con el mercado, disminuyendo las bacterias patógenas y mejorando el estatus nutricional y rendimientos en los animales. El Consejo de la Unión Europea se prohibió el uso de antibióticos como promotores de crecimiento, observándose incremento de las patologías entéricas y una reducción del 7% de su rentabilidad. Toledo, et al., (2007). Así buscan aditivos o sustancias naturales que ayuden aumentar significativamente los parámetros en conejos, Muñoz R, et al., (2011), menciona que el propóleo en diferentes especies animales, ha demostrado propiedades inmunoestimulantes, antioxidantes, antibacteriales, antitumorales y antivirales. Sus características hacen que propóleo sea una sustancia importante, que puede ser incluida en la dieta de animales para lograr fortalecer el sistema inmunológico, y ayuda a mejorar el rendimiento productivo, estas características lo clasifican como aditivo natural.

Este proyecto tiene por objeto incluir el propóleo en conejos de producción, para mejorar la altura de las vellosidades intestinales, obtener una mejor absorción de nutrientes y obstante un aumento en los parámetros productivos.

## **7.5 OBJETIVO**

Utilizar al propóleo para mejorar la salud intestinal, evitar trastornos digestivos y obtener mejores parámetros productivos.

## **7.6 ANÁLISIS DE FACTIBILIDAD**

El proyecto es realizable económica y ambientalmente, al utilizar el propóleo un subproducto de las abejas incentivamos a productores a cuidar estas insectos los cuales no solo ayuda a la polinización, si no que por dicho proceso acelera el desarrollo de varios cultivos, tal como el forraje que se emplea como fuente de alimentación para los conejos, entre sus demás beneficios esta la elaboración de miel, polen, jalea, cera, que

son productos naturales los cuales se pueden almacenar por largo tiempo a una temperatura ambiente.

Al recolectar el propóleo se puede elaborar una solución oral la cual se administra a los conejos con el fin de mejorar sus parámetros productivos, al mejorar su salud intestinal

## **7.7 FUNDAMENTACIÓN**

Moposita, (2014). Menciona que en un estudio de mercado a nivel nacional las provincias con mayor producción canícula es Tungurahua con el 50 % del total nacional, seguido por Pichincha, Chimborazo, Imbabura y Cotopaxi. Se estima que en la provincia de Tungurahua se produce anualmente 34.803 kilogramos de carne y existe una demanda de 67.378 kilogramos (Fiallos 2009).

Hoy en día, existe la necesidad de obtener productos naturales, que no afecten la calidad de la carne, ayuden a combatir patógenos, que promuevan el desarrollo en el menos tiempo posible y que sea económicamente sustentable.

## **7.8 METODOLOGÍA**

Colocar rodenticidas alrededor del galpón.

Desinfectar con Yodo (10 ml/litro de agua), todos los comederos.

Limpia por aspersion todo el galpón con formol

Desinfectar tanques y tuberías con Yodo (5 ml/litro de agua) dejando el producto por 24 horas, después se debe enjuagar los tanques y la tubería con abundante agua.

### **- Preparación el extracto etanolito de propóleo al 10%**

Se necesita 100 gr de propóleo, esto se coloca en un envase ámbar, en otro envase se debe colocar 800 cc de alcohol etílico al 80°. En otro envase ámbar se mezcla el propóleo con el alcohol, el agita constantemente para lograr una mezcla homogénea, dándonos como resultado una tintura con una coloración gris oscura con el 20% de concentración.

- **Recepción de conejos**

Se debe proporcionar alimento y agua fresca.

- **Manejo productivo.**

Se debe pesar a los conejos para obtener el peso inicial.

Realizar registros semanales.

- **Administración del propóleo**

Se suministra el propóleo en el agua de bebida o de forma oral directamente.

## **7.9. ADMINISTRACIÓN**

La administración de esta investigación estará a cargo del Área de Producción de Herbívoros FCAG-UTA, Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Técnica de Ambato.

## **7.10. PREVISIÓN DE LA EVALUACIÓN**

Los productores al realizar la propuesta podrán mejorar los parámetros productivos, mediante su administración, y lograr un animal saludable sin afectar su calidad cárnica, luego de un año de vigencia de la propuesta se establecerá el impacto obtenido, al realizar una encuesta a los productores.