



UNIVERSIDAD DE CUENCA

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

“EFECTO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE PROPÓLEO SOBRE LA MICROFLORA BACTERIANA, MORFOMETRÍA DE VELLOSIDADES INTESTINALES Y COMPORTAMIENTO PRODUCTIVO, EN POLLOS DE ENGORDE”

Tesis previa a la obtención
del Título de Médico
Veterinario Zootecnista.

AUTORES:

GABRIELA RAQUEL CASTILLO GUAMÁN
CRISTHIAN RAFAEL PACHECO BARRERA

DIRECTOR:

Dr. FABIÁN MANUEL ASTUDILLO RIERA M.V.Z., Mg.Sc.

CUENCA - ECUADOR

Cuenca, 27 de Abril de 2016



RESUMEN

La presente investigación tuvo como objetivo evaluar el efecto del Extracto Etanólico de Propóleo (EEP) sobre la microflora bacteriana, morfometría de vellosidades intestinales y comportamiento productivo, en pollos de engorde. Se utilizaron 400 pollos entre machos y hembras de un día de edad estirpe Cobb 500, los cuales fueron alojados en 20 unidades experimentales conformadas por 20 aves cada una, y sometidos a 4 tratamientos con 5 repeticiones. Los tratamientos utilizados fueron: T1 control, sin la adición de antibiótico promotor de crecimiento (APC) y de Extracto Etanólico de Propóleo (EEP); T2 inclusión de 200 mg de EEP/Kg de alimento; T3 inclusión de 300 mg de EEP/Kg de alimento y T4 inclusión de 400 mg de EEP/ kg de alimento; el EEP fue incluido directamente en el alimento al momento de su preparación, y todas las dietas contaron con la supresión del APC. Las variables estudiadas fueron: población bacteriana intestinal benéfica y patógena, morfometría de vellosidades intestinales, peso, ganancia media de peso, consumo de alimento, índice de conversión alimenticia, mortalidad e índice de productividad. Para la medición de las variables: población bacteriana y morfometría de vellosidades intestinales se sacrificó 1 ave por repetición a los 21 y 42 días de edad; las demás variables fueron valoradas semanalmente hasta los 49 días. Los resultados obtenidos revelaron que existen diferencias estadísticas ($p < 0.05$) para la población bacteriana a los 42 días de edad. Los tratamientos que contaron con la adición de EEP redujeron significativamente ($p < 0.05$) el conteo de *Escherichia coli* y Coliformes totales, a la vez que estimularon el crecimiento de bacterias del ácido láctico frente al tratamiento control (T1). De igual forma se encontraron diferencias estadísticas significativas ($p < 0.05$) en altura de vellosidad a los 42 días, siendo los tratamientos 2,3 y 4 los que manifestaron un valor superior frente al tratamiento control (T1).

Palabras Claves: Extracto etanólico de propóleo, microflora bacteriana, vellosidades intestinales, comportamiento productivo.



ABSTRACT

This research aims to evaluate the effect of ethanol extract of propolis (EEP) on bacterial microflora, morphometry of intestinal villi and productive performance in broilers. Mixed 400 chickens a day-old Cobb 500 lineage were used, which were housed in 20 experimental units with 20 birds each, and subjected to 4 treatments with 5 replications were used. The experimental treatments were: T1) control, without the addition of antibiotic growth promoter (APC) and EEP; T2) including EEP 200 mg / kg of feed; T3) including EEP 300 mg / Kg of feed and T4) including EEP 400 mg / kg feed; EAF will be included directly in the food at the time of preparation, and all diets had the suppression of APC. The variables under study were beneficial intestinal bacterial population and pathogenic, morphometry of intestinal villi, weight, average weight gain, feed intake, feed conversion ratio, mortality (%) and productivity index. For the measurement of the variables: bacterial population and morphometry of intestinal villi, one bird per repeat at 21 and 42 days old chicken sacrificed; other variables were assessed weekly up to 49 days. The results revealed that there are statistically significant differences ($p < 0.05$) for the bacterial population at 42 days of age. Treatments which involved the addition of EEP, significantly ($p < 0.05$) counting *Escherichia coli* and total coliform, while stimulated the growth of lactic acid bacteria compared to the control treatment (T1). Likewise, statistically significant differences ($P < 0.05$) villus height at 42 days were found to be 2.3 and 4 treatments that showed a higher value compared to the control treatment (T1).

Keywords: ethanol extract of propolis, bacterial microflora, intestinal villi, productive performance.



Contenido

I.- INTRODUCCIÓN 1

 1.1.- Objetivo general:..... 2

 1.2.- Objetivos Específicos:..... 3

 1.3.- Hipótesis: 3

II.- REVISIÓN DE LITERATURA:..... 4

 2.1.- SALUD INTESTINAL DEL POLLO DE ENGORDE: 4

 2.1.1.- Integridad intestinal 4

 2.1.2.- Barreras Naturales de Protección de la Integridad Intestinal:..... 5

 2.1.3.- Factores que afectan la Salud Intestinal:..... 6

 2.2.- MICROFLORA INTESTINAL: 6

 2.2.1.- Composición:..... 6

 2.2.2.- Función:..... 8

 2.2.3.- Alteraciones:..... 8

 2.3.- MORFOFISIOLOGÍA INTESTINAL: 9

 2.3.1.- Mucosa 10

 2.3.2.- Submucosa..... 13

 2.3.3.- Muscular 13

 2.3.4.- Serosa 13

 2.4.- ANTIBIÓTICOS PROMOTORES DE CRECIMIENTO..... 13

 2.4.1.- Modo de acción: 14

 2.4.2.- Consecuencias: 15

 2.5.- ALTERNATIVAS AL USO DE ANTIBIÓTICOS PROMOTORES DE CRECIMIENTO:..... 16

 2.5.1.- Probióticos..... 17

 2.5.2.- Prebióticos..... 17

 2.5.3.- Simbióticos: 17

 2.5.4.- Ácidos Orgánicos 17

 2.5.5.- Extractos de Plantas, Aceites esenciales y otros 18

 2.6.- PROPÓLEO..... 18

 2.6.1.- Generalidades 18



2.6.2.- Características Físicas	19
2.6.3.- Composición.....	19
2.6.4.- Propiedades:	20
2.6.4.1.- Propiedades Antimicrobianas.....	21
2.6.4.2.- Propiedad Inmunoestimulante.....	22
2.6.4.3.- Propiedades en el Comportamiento Productivo:	23
III.- MATERIALES Y MÉTODOS:.....	24
3.1.- MATERIALES:	24
3.1.1.- Físicos:	24
3.1.2.- Químicos:	24
3.1.3.- Biológicos:	24
3.1.4.- De oficina:.....	24
3.2.- MÉTODOS:.....	25
3.2.1.- Área de Estudio:	25
3.2.2.- Metodología para la Investigación Experimental:	26
3.2.2.1.- Tratamientos:	26
3.2.2.2.- Diseño Experimental:	26
3.2.2.2.1.- Unidades experimentales:.....	26
3.2.2.2.2.- Variables a evaluarse:.....	27
3.2.2.2.3.- Análisis estadístico:.....	27
3.2.2.3.- Manejo del experimento:	28
3.2.2.3.1.- Obtención del Extracto Etanólico de Propóleo (EEP):	28
3.2.2.3.2.- Manejo Zootécnico:.....	29
3.2.2.3.3.- Manejo Sanitario:	29
3.2.2.3.4.- Manejo Nutricional:	30
3.2.2.3.5.- Toma de Muestras:	31
3.2.2.4.- Toma de datos:	32
3.2.2.5.- Procesamiento de Datos:	33
IV.- RESULTADOS Y DISCUSION	34
4.1.- Microflora bacteriana intestinal	34



4.2.- Morfometría de vellosidades intestinales	36
4.3.- Peso final, Ganancia media de peso, Consumo de alimento e Índice de conversión.....	37
4.4.-Mortalidad	39
4.5.-Índice de Productividad.....	39
V.-CONCLUSIONES	41
VI.-RECOMENDACIONES:.....	42
VII.- BIBLIOGRAFÍA.....	43
VIII.- ANEXOS:.....	48



LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Composición de las floras bacterianas de íleon (A) y ciego (B) de pollos de engorde, determinado por la secuencia de las 1.230 clones de una biblioteca de ADN comunidad 16S rDNA. (Lu & Idris, 2003). 7

Figura 2. División Política Territorial de las Parroquias Rurales del Cantón Cuenca. ... 25

Figura 4. Población de bacterias Intestinales a nivel de Íleon en pollo de engorde a los 42 días de edad log UFC/g. 35

Figura 5. Altura de vellosidades intestinales, a los 42 días de edad en pollos de engorde..... 37



LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Composición Promedio del propóleo según (Farré, Frassetto, & Sánchez, 2004)	20
Tabla 2. Perfil Nutricional de las dietas experimentales	31
Tabla 3. Microflora bacteriana a nivel de íleon, por tratamiento log UFC/g.....	34
Tabla 4. Morfometría de vellosidades intestinales en pollos de engorde.	36
Tabla 5. Peso, Ganancia Media de Peso, Consumo de Alimento y Conversión Alimenticia en pollos de engorde.	38
Tabla 6. Mortalidad en pollos de engorde.	39
Tabla 7. Índice de productividad en pollos de engorde.	40



LISTA DE ANEXOS

Anexo 1. Especificación de la disposición de las Unidades experimentales, con el diseño de Bloques al Azar utilizados en la investigación.	48
Anexo 2. Elaboración del Extracto Etanólico de Propóleo.....	49
Anexo 3. Toma de muestras a los 21 y 42 días de edad del pollo.	49
Anexo 4. Procesamiento de muestras para el análisis microbiológico.	50
Anexo 5. Medición de vellosidades intestinales con el sistema analizador de imagen computarizado.....	50
Anexo 6. Fotomicrografía de vellosidades intestinales, se evidencia el largo y ancho de la vellosidad.	51
Anexo 7. Análisis de Covarianza para E. Coli a los 42 días de edad del pollo.....	52
Anexo 8. Prueba de Bonferroni, para E. Coli a los 42 días de edad del pollo.	52
Anexo 9. Análisis de Covarianza para Coliformes Totales a los 42 días de edad del pollo.....	53
Anexo 10. Prueba de Bonferroni, para Coliformes Totales a los 42 días de edad del pollo.....	53
Anexo 11. Análisis de Covarianza para Bacterias Lácticas a los 42 días de edad del pollo.....	54
Anexo 12. Prueba de Bonferroni, para Bacterias Lácticas a los 42 días de edad del pollo.....	54
Anexo 13. Análisis de Covarianza de altura de vellosidades a los 42 días de edad del pollo.....	55



Universidad de Cuenca

Anexo 14. Prueba de Bonferroni, para altura de vellosidades a los 42 días de edad del pollo.....	55
Anexo 15. Promedio de Peso semanal durante la investigación.....	56
Anexo 16. Consumo de Alimento Acumulado por semana y por tratamiento.....	57
Anexo 17. Mortalidad Acumulada por Semana.	58



Universidad de Cuenca

Yo, Gabriela Raquel Castillo Guamán autor de la tesis "EFECTO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE PROPÓLEO SOBRE LA MICROFLORA BACTERIANA, MORFOMETRÍA DE VELLOSIDADES INTESTINALES Y COMPORTAMIENTO PRODUCTIVO, EN POLLOS DE ENGORDE", reconozco y acepto el derecho de la Universidad de Cuenca, en base al Art. 5 literal c) de su Reglamento de Propiedad Intelectual, de publicar este trabajo por cualquier medio conocido o por conocer, al ser este requisito para la obtención de mi título de Médico Veterinario Zootecnista. El uso que la Universidad de Cuenca hiciera de este trabajo, no implicará afección alguna de mis derechos morales o patrimoniales como autor.

Cuenca, 27 de Abril de 2016

A handwritten signature in blue ink, appearing to read "Gabriela", is written over a horizontal line.

Gabriela Raquel Castillo Guamán

0105107304



Universidad de Cuenca

Yo, Cristhian Rafael Pacheco Barrera autor de la tesis "EFECTO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE PROPÓLEO SOBRE LA MICROFLORA BACTERIANA, MORFOMETRÍA DE VELLOSIDADES INTESTINALES Y COMPORTAMIENTO PRODUCTIVO, EN POLLOS DE ENGORDE", reconozco y acepto el derecho de la Universidad de Cuenca, en base al Art. 5 literal c) de su Reglamento de Propiedad Intelectual, de publicar este trabajo por cualquier medio conocido o por conocer, al ser este requisito para la obtención de mi título de Médico Veterinario Zootecnista. El uso que la Universidad de Cuenca hiciera de este trabajo, no implicará afección alguna de mis derechos morales o patrimoniales como autor.

Cuenca, 27 de Abril de 2016

Cristhian Rafael Pacheco Barrera

0105792949



Autoría

Yo, Gabriela Raquel Castillo Guamán autor de la tesis "EFECTO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE PROPÓLEO SOBRE LA MICROFLORA BACTERIANA, MORFOMETRÍA DE VELLOSIDADES INTESTINALES Y COMPORTAMIENTO PRODUCTIVO, EN POLLOS DE ENGORDE", certifico que todas las ideas, opiniones y contenidos expuestos en la presente investigación son de exclusiva responsabilidad de su autor.

Cuenca, 27 de Abril de 2016

Gabriela Raquel Castillo Guamán

0105107304



Autoría

Yo, Cristhian Rafael Pacheco Barrera autor de la tesis "EFECTO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE PROPÓLEO SOBRE LA MICROFLORA BACTERIANA, MORFOMETRÍA DE VELLOSIDADES INTESTINALES Y COMPORTAMIENTO PRODUCTIVO, EN POLLOS DE ENGORDE", certifico que todas las ideas, opiniones y contenidos expuestos en la presente investigación son de exclusiva responsabilidad de su autor.

Cuenca, 27 de Abril de 2016

Cristhian Rafael Pacheco Barrera

0105792949



I.- INTRODUCCIÓN

La salud intestinal en aves, es un área compleja que combina nutrición, microbiología, inmunología y fisiología (Bailey, 2013), con el propósito de encontrar un equilibrio dinámico entre el intestino, el contenido luminal (microbiota y alimento) y las características estructurales (vellosidades) y funcionales de la mucosa (Araúz, 2015). Según Bailey (2013) al presentarse un desequilibrio entre dichos componentes intestinales, se compromete la digestión y la absorción de nutrientes, poniendo en riesgo el desempeño productivo y el bienestar del ave.

El mantenimiento de un armónico funcionamiento intestinal es un reto importante en la producción avícola actual; esto, sumado al aumento de las necesidades alimenticias y a la búsqueda del mejor desempeño productivo, precisa la importancia de mantener una buena salud intestinal a nivel de pollo de engorde; de igual forma, el rubro de alimentación representa entre el 60 y 70% de los costos de producción (Baghbanzadeh & Decuyper, 2008) (Saleh, Watkins, Waldroup, & Waldrop, 2005) por ende las estrategias nutricionales, tienen un impacto importante sobre el rendimiento productivo y económico de las parvadas. (Ruben Carmona, 2009).

Los antibióticos promotores de crecimiento (APC), son compuestos comúnmente utilizados para mantener equilibrada la microflora intestinal, gracias a su efecto antibacteriano sobre la microbiota patógena, garantiza así una adecuada integridad de la membrana y un óptimo desarrollo de vellosidades (Ortíz Martínez, 2013); sin embargo en los últimos años se han presentado diversos cuestionamientos sobre su uso, a tal punto que la Comunidad Europea restringe su empleo en la alimentación animal (Cepero Briz, 2006). Según Sumano López & Gutiérrez Olvera (2010) la mayoría de estos productos no son del todo eficaces, pues su baja dosificación tiende a generar resistencias bacterianas, un porcentaje de estos resultan tóxicos para las especies y algunos más generan residuos en los tejidos o en los productos de origen animal potencialmente peligrosos para la salud pública. Es por esta razón que en los



últimos años se ha venido promoviendo la utilización de alternativas naturales a estos APC.

Los extractos naturales, han despertado un interés notable en nutrición humana y animal; sus mecanismos de acción son muy variados sobresaliendo su acción antibacteriana sobre microorganismos intestinales, promoción en la absorción intestinal de nutrientes y vitaminas y estimulación del sistema inmunitario de las aves (Sumano López & Gutiérrez Olvera, 2010). Dentro de este grupo tenemos al Extracto Etanólico de Propóleo (EEP), obtenido de la forma pura del propóleo, material resinoso recopilado por las abejas de las yemas y cortezas de algunos árboles y plantas; sus variados componentes flavonoides, ácidos aromáticos, ácidos diterpénicos y compuestos fenólicos, hacen que éste, presente una gama de actividades y funciones dentro de la medicina veterinaria (Coelho, y otros, 2010) citando a Barth et al. (1999).

El EEP ha sido sometido a estudios sobresaliendo su poder como agente antibacteriano (Mirzoeva, et al., 1997) obteniéndose esta propiedad de los flavonoides que lo componen, también destaca su poder como agente inmunoestimulante (Farré, et al., 2004).

El presente trabajo evalúa el efecto del Extracto Etanólico de Propóleo (EEP) sobre la salud intestinal y la productividad en el pollo de engorde, considerando su poder como agente antibacteriano y su potencial influencia sobre el desempeño del ave; al mismo tiempo pretende estimular el desarrollo de investigaciones encaminadas a descubrir productos o plantear estrategias, que cubran espacios sustanciales en la salud del ave, así como de potenciales sustitutos de los APC.

1.1.- Objetivo general:

Evaluar el efecto del Extracto Etanólico de Propóleo (EEP) sobre la microflora bacteriana, morfometría de vellosidades intestinales y comportamiento productivo, en pollos de engorde.



1.2.- Objetivos Específicos:

- Evaluar la población bacteriana intestinal, mediante la identificación y valoración de bacterias consideradas benéficas (Bacterias del Ácido láctico) y patógenas (*Escherichia coli* y Coliformes totales).
- Evaluar los valores morfométricos de las vellosidades intestinales, relacionados con su altura y ancho.
- Determinar el efecto del EEP sobre: el peso vivo, el consumo de alimento, ganancia media de peso, conversión de alimento y mortalidad de los pollos empleados.

1.3.- Hipótesis:

El Extracto Etanólico de Propóleo, dosificado en las dietas para pollo de engorde, modifica benéficamente la microflora bacteriana y la morfometría de vellosidades intestinales, mejorando la salud intestinal y el comportamiento productivo.



II.- REVISIÓN DE LITERATURA:

2.1.- SALUD INTESTINAL DEL POLLO DE ENGORDE:

La salud intestinal es en esencia, el trabajo correcto del intestino en todas sus partes y funciones, desde la asimilación de nutrientes, deposición de residuos, intercambio entre bacterias benéficas/perjudiciales y su importante rol en cuanto al sistema inmunitario y tejido linfoide asociado (Araúz, 2015). La salud del intestino combina nutrición, microbiología, inmunología y morfofisiología, y tiene un papel fundamental en las explotaciones avícolas actuales; así mismo, los recientes cambios en las leyes sobre el uso de antimicrobianos, las distintas necesidades de alimentación y el mayor desempeño de las aves, enfatizan la necesidad de entender mejor el gran campo que representa la salud intestinal (Bailey, 2013).

Para obtener una óptima salud intestinal, es importante tener conocimiento y entendimiento claro de la estructura y funcionamiento del sistema intestinal (Alfaro & Briceño, 2013); según Nunes (2014) la integridad intestinal es garantizada por el correcto trabajo, tanto estructural como funcional de dos tipos de mecanismos: la estructura intestinal y la microbiota intestinal; la primera representada por las vellosidades intestinales y toda su organización, y la segunda representada por la microflora intestinal bacteriana, protozoaria y fúngica; en resumen la compaginación de estos dos mecanismos aseguran el funcionamiento eficaz del intestino en funciones como digestión, secreción, absorción y permeabilidad selectiva.

2.1.1.- Integridad intestinal

La buena integridad intestinal es esencial para:

- La digestión y absorción óptima de los nutrientes del alimento.
- Restringir el paso a los patógenos entéricos.
- Permitir que el ave alcance su potencial genético máximo de crecimiento y utilización del alimento.
- Obtener la mejor pigmentación posible.



- Mantener una resistencia máxima al desgarramiento.
- Prevenir el desperdicio de nutrientes.
- Evitar exceso de humedad en las excretas (Cervantes, 2011) .

2.1.2.- Barreras Naturales de Protección de la Integridad Intestinal:

Las barreras físicas naturales, desempeñan un papel importante al mantener la integridad y la salud intestinales del ave (Cervantes, 2011); Estas barreras protegen contra la entrada de materiales extraños y de organismos a la circulación sanguínea, impidiendo alteraciones en el equilibrio intestinal (Alfaro & Briceño, 2013). Dentro de estas tenemos:

- Moco intestinal: secretado por células especializadas localizadas en glándulas de la cavidad oral, esófago, epitelio proventricular e intestinal llamadas células caliciformes. Contiene mucina (glucoproteína) para prevenir la autodigestión de las células epiteliales de la mucosa y protegerlas de la invasión de patógenos; sirve para lubricar el paso del bolo alimenticio (Cervantes, 2011).
- Enterocitos: células que recubren y forman el epitelio intestinal que forman una barrera física continua que mantiene la integridad intestinal. Poseen funciones diferentes de acuerdo a su localización dentro de cada vellosidad, siendo su función principal la absorción de nutrientes (Bernabé Salazar, Navarro Cámara, & Pallarés Martínez, 2013).
- Secreción de líquidos: La secreción de líquidos intestinales sirve para lubricar el epitelio intestinal y arrastrar los agentes infecciosos (Cervantes, 2011).
- Irrigación sanguínea: la gran irrigación sanguínea permite transportar células protectoras del sistema inmunitario rápidamente cuando se necesita responder con una reacción inflamatoria rápida a alguna agresión o invasión de agentes infecciosos. Además, transporta rápidamente los nutrientes absorbidos a los tejidos (Cervantes, 2011).



- Tejido linfóide (GALT): el intestino tiene la cantidad más grande de tejido linfóide del organismo diseminado por todas sus secciones, pero principalmente en la lámina propia. Además, hay ciertas zonas de alta congregación de tejido linfóide como en las placas de Peyer, la coyuntura del proventrículo con la molleja y las tonsilas cecales. Este tejido es de gran importancia cuando ocurre una agresión o invasión intestinal por agentes infecciosos (Cervantes, 2011).

2.1.3.- Factores que afectan la Salud Intestinal:

Las afecciones intestinales de las aves, causan más pérdidas económicas que aquellas que alteran cualquier otro sistema y las pérdidas por mortalidad no siempre son tan significativas como las pérdidas por desempeño de las parvadas (Alfaro & Briceño, 2013).

2.2.- MICROFLORA INTESTINAL:

La microflora del tracto gastrointestinal está constituida por una diversa población compuesta principalmente por bacterias, aunque también existen hongos, protozoarios y virus (Betancourt López, 2012); su equilibrio influye directamente en la salud, el bienestar y la producción del ave.

2.2.1.- Composición:

En el tracto gastrointestinal se puede encontrar entre 200 a 400 especies diferentes de bacterias (Souza Santana & Rodrigues Mendes, 2011); a dichas bacterias se la puede dividir en tipo nativa o benéfica y otra compuesta por bacterias que potencialmente pueden comportarse como patógenos (Aguavil Enriquez , 2012) citando a Rodríguez (1994).

Según Souza Santana & Rodrigues Mendes (2011) citando a Gedek (1986), aproximadamente el 90% de la microflora se compone de bacterias benéficas y de productoras de ácido láctico, y el 10% restante se consideran bacterias patógenas. Entre las bacterias patógenas sobresalen el *Clostridium perfringens*, *Salmonella* y

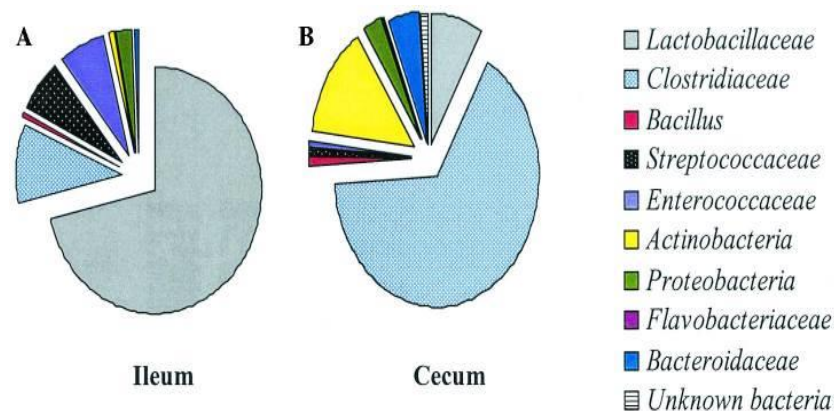


Escherichia coli; en contraste, las poblaciones de bacterias benéficas están representadas fundamentalmente por *Lactobacillus* y Bífidobacterias (Betancourt López, 2012).

En el intestino del pollo de 1 día de edad hay densidades bacterianas en íleon y ciego que pueden llegar a 10^8 y 10^{10} bacterias por gramo de digesta, respectivamente y a los 3 días las cantidades de bacterias pueden llegar a 10^9 por gramo de contenido ileal y 10^{11} por gramo de contenido cecal, estas cantidades permanecen estables hasta los 30 días. En el ave adulta hay unas 10^{14} bacterias por gramo de contenido, distribuidas en 200-400 cepas (Apajalahti et al, 2004).

Las especies bacterianas que colonizan el digestivo varían según: la especie huésped, la parte del tracto en que se encuentren, el pH del medio, la alimentación, el estado sanitario de la explotación, y el ambiente a que se expone los pollitos al eclosionar (Cepero Briz, 2006). En la siguiente figura se representa la disposición de familias bacterianas, según el lugar del tracto gastrointestinal que se encuentran.

Figura 1. Composición de las floras bacterianas de íleon (A) y ciego (B) de pollos de engorde, determinado por la secuencia de las 1.230 clones de una biblioteca de ADN comunidad 16S rDNA. (Lu & Idris, 2003).





2.2.2.- Función:

La microbiota intestinal tiene un mecanismo metabólicamente activo, sujeto a variaciones en la composición y el número de especies (Souza Santana & Rodrigues Mendes, 2011); para su óptimo funcionamiento debe presentarse en equilibrio.

Dentro de las principales funciones de una microflora equilibrada, se pueden mencionar:

- Producción de vitaminas y ácidos grasos de cadena corta.
- Degradación de sustancias alimenticias no digeridas.
- Integridad del epitelio intestinal,
- Estímulo de la respuesta inmunitaria.
- Protección frente a microorganismos enteropatógenos (Aguavil Enriquez , 2012).
- Reducción en la producción de gas (Souza Santana & Rodrigues Mendes, 2011).

La reducción de las bacterias totales por exclusión competitiva, conducen a una disminución de la actividad del sistema inmune intestinal, lo cual libera energía para procesos metabólicos relacionados con el crecimiento (Betancourt López, 2012) citando a (Collier et al., 2003).

2.2.3.- Alteraciones:

Las perturbaciones del ecosistema bacteriano pueden ser definidas como disbacteriosis, se refiere a los cambios en el número o composición de las bacterias intestinales que pueden originar perturbaciones digestivas (Aguavil Enriquez , 2012). En este estado se altera la funcionalidad intestinal, produciendo daño en el epitelio intestinal, mayor producción de metabólicos tóxicos, aumento de la producción de gas, debilitamiento del sistema inmune y una renovación celular acelerada con el consecuente aumento de la demanda de energética (Nunes, 2014).



Se pueden presentar manifestaciones clínica como diarreas, infecciones y síndrome de mala absorción (Souza Santana & Rodrigues Mendes, 2011), reduciendo el comportamiento productivo del pollo de engorde.

2.3.- MORFOFISIOLOGÍA INTESTINAL:

El intestino delgado comienza a la salida de la molleja y termina en la unión del intestino delgado, intestino ciego y el colon. Es relativamente largo y tiene un diámetro constante. Se divide en tres partes: duodeno, yeyuno e íleon; de las tres partes del intestino delgado mencionadas, sólo el duodeno puede distinguirse fácilmente en las aves. No hay una clara diferenciación entre el yeyuno e íleon por lo tanto el intestino delgado aparece como un tubo largo. (Poultry CRC, 2015)

Duodeno: Está situado en el asa intestinal después del proventrículo consiste en una porción proximal hacia abajo y un ascendente distal, entre las cuales se encuentra el páncreas. En su porción ascendente abre los conductos biliares y pancreáticos que conducen la bilis y los jugos pancreáticos al intestino (Boaro, 2009) citando a (Macari et al., 2002).

Yeyuno: Es la parte más larga del intestino delgado y se dispone en varios bucles. Una pequeña excrecencia, la yema o divertículo de Meckel, marca la antigua conexión con el saco vitelino (Boaro, 2009) citando a (Macari et al., 2002).

Íleon: Continúa desde el yeyuno sin límites definidos, invariablemente descrito como productos de partida en el divertículo yema de huevo, opuesto al vértice del ciego y luego delimitada por punto de conexión cecocólico (Boaro, 2009) citando a (Macari et al., 2002).

Gran parte de la digestión del alimento y la totalidad de la absorción de los nutrientes tiene lugar en el intestino delgado y por lo tanto su estructura es bastante importante.

Su estructura histológica es la siguiente:



1. Mucosa
2. Submucosa
3. Muscular
4. Serosa (Bernabé Salazar et al. 2013)

2.3.1.- Mucosa

La mucosa participa directamente en el proceso de digestión y absorción de nutrientes. Las estructuras implicadas en esta función son: los pliegues, las vellosidades, las criptas y las microvellosidades (Bernabé Salazar et al. 2013).

Los pliegues llamados también pliegues circulares o válvulas de Kerckring, están constituidos por la mucosa y la submucosa, y se encuentran en el extremo proximal del duodeno (Poultry CRC, 2015)

Según Yamauchi (2002) las vellosidades son proyecciones digitiformes de la mucosa, que se extienden en el lumen (interior) del intestino como dedos flexibles; vasos linfáticos, capilares, haces de fibras musculares lisos, los nervios y otros tejidos y células ocupan el núcleo de la vellosidad. Las vellosidades tienen la función de proporcionar un gran aumento de superficie para la absorción eficiente de los nutrientes. La eficiencia de la absorción está influenciada por el área superficial disponible para los nutrientes, es decir, mientras más vellosidades mejor será la absorción (Poultry CRC, 2015); para Boaro (2009) el número y tamaño de las vellosidades dependen del número de células que lo componen, por lo tanto, cuanto mayor sea el número de células mayor es el tamaño de las vellosidades y consecuentemente mayor área de absorción de nutrientes.

Las criptas intestinales están formadas por invaginaciones tubulares de la mucosa, que se abren en la base de las vellosidades. Las microvellosidades se localizan en el borde apical de los enterocitos.

En la mucosa se distinguen estructuras tales como:



- Epitelio
- Lámina propia
- Muscularis mucosae o muscular de la mucosa.

a. Epitelio

Según Bernabé Salazar et al. (2013) la mucosa está revestida por un epitelio simple cilíndrico, que forma una capa celular continua sobre las vellosidades y las criptas. Está constituido por cinco tipos celulares: enterocitos, células caliciformes, células de Paneth, células enteroendocrinas y células madre pluripotenciales. El número y distribución de cada uno de estos tipos celulares varía según la región considerada (Bernabé Salazar et al., 2013).

1. Enterocitos: son las células principales del intestino delgado y su función primordial es la absorción de nutrientes. Tapizan la superficie luminal desde la base hasta la punta de las vellosidades (Gava, 2012) citando a (Hodges & Michael, 1975). Están recubiertas por el glucocáliz, estructura filamentosa que desempeña funciones de protección y manifiesta una marcada actividad enzimática por la presencia de hidrolasas específicas destinadas a la digestión terminal de nutrientes (Bernabé Salazar et al., 2013).
2. Células caliciformes: Se localizan tanto en el epitelio de las vellosidades como en las criptas; son productoras de la mucina, (Gava, 2012) citando a (Potten et al., 1990; Scoville et al., 1995) que asociado con el glicocáliz de las microvellosidades crean una capa viscoelástica en la pared intestinal para restringir la difusión de los compuestos de alto peso molecular. El objetivo principal de esta mucina es llevar nutrientes de la superficie de absorción y proteger las enzimas asociadas con la degradación de la mucosa por las enzimas pancreáticas lumen (Boaro, 2009).
3. Células de Paneth: aparecen en el fondo de las criptas, aisladas o formando pequeños grupos, contienen abundantes gránulos de secreción acidófilos que



contienen lisozima y péptidos de acción antibacteriana, implicados en la defensa de la mucosa intestinal (Bernabé Salazar et al., 2013)

4. Células enteroendocrinas: se encuentran principalmente en las criptas, también llamadas células argentafins, producen hormonas peptídicas tales como la gastrina, colecistoquinina, secretina, polipéptido inhibidor gástrico y monoaminas biogénicas que son sustancias que participan en la regulación de la digestión, absorción y utilización de nutrientes. (Gava, 2012)
5. Células madre pluripotenciales: ocupan sobre todo el tercio inferior de las criptas, donde constituyen el tipo principal. La capacidad de estas células es prácticamente nula, pero al emigrar hacia el vértice de la vellosidad sus microvellosidades se alargan, se hacen más numerosas y regulares y desarrollan la dotación enzimática necesaria para la digestión y absorción (Bernabé Salazar et al., 2013)

b. La lámina propia

El epitelio de las vellosidades y de las criptas se encuentra separado por lámina propia de la membrana basal.

Está formada por una red de tejido conectivo laxo, que ocupa el centro de las vellosidades y el territorio entre las criptas. Según (Koutsos & Arias, 2006), la lámina propia es una red estructural que estabiliza el epitelio y contiene fibras nerviosas, así como una abundancia de células inmunes, incluyendo células plasmáticas (IgA secretor), linfocitos T (generalmente CD4 +), macrófagos, eosinófilos, mastocitos y células dendríticas, cuyo número tiende a incrementarse con la edad y desempeñan una importante función defensiva frente a los posibles agentes patógenos capaces de atravesar la barrera intestinal.

c. Muscularis mucosae

La muscular de la mucosa es una banda delgada compuesta por dos finas capas de fibras musculares lisas perpendiculares entre sí.



2.3.2.- Submucosa

La submucosa es una vía por la que atraviesan capilares y vasos de mayor calibre sanguíneo y linfáticos, estos drenan y dan alimento a la mucosa y muscular externa. Según Ferrufino , Taxa, & Angeles (1996) la inervación de los intestinos está dada por un componente extrínseco (fibras simpáticas y parasimpáticas) y otro intrínseco dado por agrupaciones de neuronas que conforman en la submucosa, el plexo de Meissner, y el plexo mientérico o de Auerbach. Los plexos contienen algunas neuronas sensoriales que reciben información de terminaciones nerviosas cerca al epitelio de las vellosidades y en la muscular externa sobre la composición del contenido intestinal (quimiorreceptores) y el grado de expansión de la pared intestinal (mecanorreceptores).

2.3.3.- Muscular

Está formada por dos capas de fibras musculares lisas, la circular interna y la longitudinal externa. Ambas están unidas por un tejido conectivo rico en fibras elásticas donde se sitúa el plexo nervioso mientérico o de Auerbach.

2.3.4.- Serosa

Está constituida por una delgada capa de tejido conectivo laxo recubierta por un mesotelio. La serosa se corresponde con la hoja visceral del peritoneo (Bernabé Salazar et al., 2013).

2.4.- ANTIBIÓTICOS PROMOTORES DE CRECIMIENTO

En las últimas cuatro décadas, como suplemento fue común añadir antibióticos al alimento de las aves a fin de estimular su crecimiento y para protegerlas de microorganismos patógenos (Sumano López & Gutiérrez Olvera, 2010). Los agentes antimicrobianos se utilizan en producción animal con numerosos fines entre los que se incluyen la terapia y prevención de diversas enfermedades y la mejora de la productividad. La adición de niveles bajos de antibióticos al pienso durante períodos prolongados ha sido una práctica habitual en la industria avícola en los últimos años y proporciona un aumento en la ganancia de peso y en el índice de



conversión (Mateos, Lázaro, & Gracia, 2002). Además de los beneficios anotados Ortíz Martínez (2013) menciona que los antibióticos promotores de crecimiento reducen los requerimientos de alimento en la producción intensiva de animales, sin alterar los índices productivos; describe beneficios ambientales tales como la reconsideración de la densidad animal, la reducción de la polución y de la presión del cambio de uso del suelo de forestal a pecuario.

Entre los antecedentes más representativos del uso de antibióticos como promotores de crecimiento se describen los hallazgos de Martín en 1942, quien encontró que la mortalidad de ratas jóvenes podía prevenirse, y su tasa de crecimiento incrementarse adicionando al alimento 1 mg de sulfanidamida diariamente. Posteriormente Moore y sus colaboradores en 1943, describieron que el Succinilsulfatiazol y la Estreptomina incrementaron el crecimiento de pollos. Estos autores sugieren que la dieta suplementada con antibióticos, inhibió las bacterias intestinales que son productoras de sustancias tóxicas o que hacen que ciertas vitaminas o nutrientes de la dieta no estén disponibles para el animal (Ortíz Martínez, 2013). Según estudios recientes realizados en países de la Comunidad Económica Europea (CEE), la industria pecuaria consume 4700 toneladas de antibióticos, lo que representa cerca del 35% del total de los antibióticos utilizados en todas las áreas; de estas, 786 toneladas (un 6% del total) se usan como aditivos promotores del crecimiento (Sumano López & Gutiérrez Olvera, 2010).

2.4.1.- Modo de acción:

Los antibióticos promotores de crecimiento (APC) actúan en el organismo provocando modificaciones en los procesos digestivos y metabólicos de las aves, lo que se traduce en una mayor eficacia en la utilización de los alimentos provocando ganancias significativas en el peso, y el objetivo productivo de la empresa avícola (Sumano López & Gutiérrez Olvera, 2010). A nivel intestinal, los APC no se absorben y su efecto se basa en la interacción con la microbiota intestinal, así se puede explicar que estos disminuyen la competencia por los nutrientes entre la microbiota nativa y la patógena,



y disminuyen los metabolitos microbianos que afectan el crecimiento (Ortíz Martínez, 2013); otros efectos mencionados por Sumano López & Gutiérrez Olvera (2010) son las reducciones en el ritmo de tránsito de la digesta y aumento en la absorción de algunos nutrientes (p. ej., vitaminas), una baja en la producción de amoníaco, aminos tóxicos y otras toxinas que deben ser inactivadas a nivel hepático, así como adelgazamiento del grosor de las vellosidades de la mucosa intestinal. Ortíz Martínez (2013) recalca el importante efecto sobre la pared intestinal y menciona que la reducción del tamaño del intestino y del espesor de la pared intestinal y vellosidades de la lámina propia, explican la mejoría en la digestibilidad y absorción de nutrientes en animales alimentados con APC, estos efectos se deben en parte, a la menor proliferación de las células de la mucosa por la disminución de ácidos grasos de cadena corta derivados de la fermentación microbiana.

En resumen, con respecto a los múltiples efectos de estos APC, se sabe que actúan a nivel intestinal y causan todos los efectos ya mencionados, pero en síntesis el efecto final de estos procesos es el ahorro energético que producen en el organismo. Según Ortíz Martínez (2013) la microbiota compite con el huésped por nutrientes, estimula el recambio de las células epiteliales absorptivas, estimula el sistema inmune y la respuesta inflamatoria, todo ello requiere en condiciones normales de un gran aporte de energía. El consumo de dicha energía va a verse disminuida mediante la utilización de estos APC, en consecuencia esta energía es utilizada en otros procesos del mismo organismo como por ejemplo crecimiento, ganancia de peso, producción entre otros.

2.4.2.- Consecuencias:

Según Sumano López & Gutiérrez Olvera (2010), la mayoría de estos productos no son del todo eficaces, pues su baja dosificación tiende a generar resistencias bacterianas; un porcentaje de estos resultan tóxicos para las especies y algunos más generan residuos en los tejidos o en los productos de origen animal potencialmente peligrosos para la salud pública. Aun así, los antibióticos promotores del crecimiento (APC) son los aditivos a los que más se recurre en la industria pecuaria; con esto concuerda



Mateos, Lázaro, & Gracia (2002) quienes mencionan que el uso indiscriminado de antibióticos aumenta el número de cepas resistentes a antibióticos de uso común en medicina humana, así como la posibilidad de transferencia de resistencias cruzadas a otros microorganismos.

No obstante a lo anterior y pese a los efectos benéficos de los APC, las presiones económicas mundiales causaron su prohibición en la Comunidad Económica Europea y quizás en países como Estados Unidos y Canadá, lo que implica que se deberán poner en práctica estrategias alternativas para contrarrestar los efectos negativos en el comportamiento productivo de los animales por el retiro de los APC de sus alimentos. Para alcanzar estos objetivos convendría considerar las siguientes medidas: mejorar el manejo y bienestar de los animales; cambiar la composición de ciertos elementos de la dieta, y buscar y evaluar todas las posibles alternativas (Sumano López & Gutiérrez Olvera, 2010)

2.5.- ALTERNATIVAS AL USO DE ANTIBIÓTICOS PROMOTORES DE CRECIMIENTO:

Con la presencia de inconvenientes por el uso de antibióticos promotores de crecimiento en la alimentación animal, se han desarrollado un sinnúmero de procesos de investigación, desarrollo e innovación en la búsqueda de productos alimenticios alternativos que reemplacen los efectos benéficos de los llamados antibióticos promotores de crecimiento y que a su vez garanticen la eficacia nutricional de las empresas avícolas.

Dentro de las alternativas al uso dichos promotores, tenemos sustancias tales como: probióticos, prebióticos, simbióticos, ácidos orgánicos, aceites esenciales, acidificantes, extractos de plantas, entre otros. Dichas sustancias se presentan como alternativas debido a sus efectos conjugados de regulación microbiótica intestinal, efectos antibacterianos, promotores inmunológicos y de rendimiento, favorecen un ambiente intestinal adecuado, etc.



2.5.1.- Probióticos

Se definen como un cultivo de microorganismos vivos que, utilizado como aditivo alimentario beneficia al animal mejorando el equilibrio de su microbiota intestinal (Cepero Briz, 2006). Según Sumano López & Gutiérrez Olvera (2010) son cultivos de microorganismos (bacterias, hongos y levaduras) que tienen un actuar competitivo, ya sea de forma directa (por crecimiento poblacional) o indirecta (por producción de inhibidores) sobre bacterias patógenas en el TGI (gramnegativas, en especial).

2.5.2.- Prebióticos

Son ingredientes no digeribles que estimulan selectivamente el crecimiento y/o actividad de una o varias especies bacterianas de la microbiota intestinal, y que provocan una mejora de la salud del animal (Cepero Briz, 2006). Tienen la facultad de inhibir la adhesión de ciertas cepas de microorganismos patógenos a la pared del TGI, mientras actúan como nutrientes para otros organismos benéficos para los animales (Sumano López & Gutiérrez Olvera, 2010).

2.5.3.- Simbióticos:

Una forma práctica de manejar y modificar la microflora intestinal es mediante el uso de simbióticos, que resultan al combinar un prebiótico y un probiótico en el alimento. Esta mezcla aumenta el número de microorganismos (probióticos) que sobreviven en el TGI, por lo que, por lo general, se incluye un sustrato específico (prebiótico) para los microorganismos (Sumano López & Gutiérrez Olvera, 2010).

2.5.4.- Ácidos Orgánicos

Son muy utilizados por su capacidad acidificante, inhibiendo o disminuyendo la proliferación bacteriana mediante una reducción en el pH del microambiente celular y provocan, con ello, desbalances energéticos de las bacterias al tratar de restablecer su metabolismo (Sumano López & Gutiérrez Olvera, 2010).



2.5.5.- Extractos de Plantas, Aceites esenciales y otros

Se sabe que muchos extractos de plantas tienen efectos bactericidas, bacteriostáticos, fungistáticos, etc. (Cepero Briz, 2006), por este motivo se ha incrementado el estudio de este rubro en nutrición animal. En la actualidad se ha propuesto como una de las más importantes alternativas dada su amplia variedad y naturaleza biodegradable; algunas de las plantas utilizadas hoy en día son el anís, tomillo, apio, pimienta, orégano, chile, etc. Las que contienen aceites esenciales que les confieren ciertas propiedades aromáticas. Estos extractos incrementan la ganancia en peso de las aves.

Algunos de los mecanismos propuestos son: disminución de las oxidaciones de los aminoácidos, acción antibacteriana sobre microorganismos intestinales, promoción en la absorción intestinal de nutrientes y vitaminas, estimulación de la secreción de enzimas digestivas, aumento en la palatabilidad de los alimentos, y estimulación del desarrollo y del sistema inmunitario de las aves (Sumano López & Gutiérrez Olvera, 2010).

Por otra parte, existen sustancias naturales que tienen múltiples actividades tales como antioxidante y antimicrobiana y que son de origen animal y vegetal; dentro de estas tenemos al propóleo, que es un producto obtenido de la producción apícola y que ha despertado interés en la industria humana y pecuaria debido a la atribución de múltiples efectos que van desde la actividad antimicrobiana hasta el uso como multivitamínico (Khojasteh, Shalmany; Shivazad;, 2006). El propóleo es una alternativa poco convencional para controlar los procesos infecciosos, y como estimulante de la producción.

2.6.- PROPÓLEO

2.6.1.- Generalidades

El propóleo es una sustancia resinosa, gomosa y balsámica de consistencia viscosa, de color verde marrón a casi negro, de olor agradable y dulce, que las abejas obtienen de las yemas de los árboles y de algunos vegetales a través de sus mandíbulas para



luego terminar de procesarlas al interior de la colmena con sus secreciones salivales, convirtiéndolo en una potente sustancia con el fin de combatir las bacterias, virus y hongos que atacan a la colmena (Root, 2000).

Al igual que la miel, el propóleo se conoce desde la más remota antigüedad y ha sido ampliamente utilizado por diferentes culturas con diversas finalidades, entre ellas en medicina. Con el posterior desarrollo de la química farmacéutica, y al igual que ocurrió con los tratamientos fitoterápicos, el propóleo dejó prácticamente de utilizarse. Recientemente se observa un resurgir en su uso y actualmente se investigan sus acciones, efectos y posibles usos en biología y medicina, entre los que destacan su aplicación como suplemento dietético y en la industria farmacéutica (Farré, Frasset , & Sánchez , 2004).

2.6.2.- Características Físicas

Su color varía entre el verde marrón a casi negro (Root, 2000) o entre amarillo o marrón oscuro, dependiendo siempre de su origen botánico.

El disolvente más usado para su extracción comercial es el alcohol etílico, usándose también el éter, el glicol y el agua. La mayoría de sus componentes antibacterianos son solubles en agua y alcohol (Polaino, 2010).

2.6.3.- Composición

La composición química del propóleo es altamente variable, depende del sitio de recolección y por lo tanto de los diferentes ecosistemas donde las abejas recolectan los exudados y las secreciones de las plantas.

Del propóleo se ha aislado más de 180 compuestos; sus principales componentes son resinas y bálsamos que contienen flavonoides y ácidos fenólicos o sus ésteres (50%); contenidos muy variables de ceras (7.5-35%); aceites volátiles, esenciales y aromáticos (10%); polen (5%) e impurezas (4.4-19.5%). Además contienen pequeñas cantidades



de terpenos, taninos, restos de la secreción de las glándulas salivares de las abejas y posibles contaminantes (Farré, Frasquet , & Sánchez , 2004).

Los compuestos farmacológicamente activos son los flavonoides que incluyen: flavonas, flavonoles, flavononas y flavonoles (Farré, Frasquet , & Sánchez , 2004). Con esto concuerda Muñoz Rodríguez, Linares Villalba, & Narváez Solarte (2011) quien atribuye a los flavonoides como los principales responsables de la actividad farmacológica del propóleo.

Tabla 1. Composición Promedio del propóleo según (Farré, Frasquet, & Sánchez , 2004)

COMPOSICIÓN	%	COMPUESTOS, CARACTERÍSTICAS Y OBSERVACIONES
Resinas	45-55	Flavonoides, ácidos fenólicos y ésteres
Ceras	7.55 a 35	Mayoría cera de abeja, también de origen animal
Aceites Esenciales	5-10	Volátiles
Ácidos Grasos	5	La mayoría proceden de la cera y el resto dependen del origen botánico
Polen	5	Proteínas del polen y aminoácidos libres. Predominan arginina y prolina
Otros Compuestos orgánicos y minerales	5	14 oligoelementos Fe y Zn son los más abundantes, otros: Au, Ag, Cs, Hg, K, Sb. Cetonas, Lactonas, Quinonas Esteroides Acido benzoico y ésteres Vitaminas: B1,B2, B3, B6, pequeñas cantidades procedentes principalmente del polen Azúcares

2.6.4.- Propiedades:

El propóleo es una sustancia a la cual se le atribuyen características importantes como promotor de la salud (Muñoz Rodríguez, Linares Villalba, & Narváez Solarte, 2011). El propóleo es un producto de extraordinario interés para la medicina e industria



farmacéutica, se le atribuyen múltiples efectos resaltando como antimicrobiano, inmunoestimulante, antiviral, y promotor de salud (Farré, Frasquet , & Sánchez , 2004).

2.6.4.1.- Propiedades Antimicrobianas

Según Mirzoeva, Grishanin, & Calder (1997), el mecanismo de acción del propóleo como agente antibacteriano se debe a los flavonoides y los compuestos cinámicos, los cuales actúan como alteradores del potencial de membrana de las bacterias, haciendo que este se disipe y que la bacteria pierda la capacidad de sintetizar ATP, inhibiendo su motilidad e impidiendo el desarrollo de la infección y la patogénesis del microorganismo.

El propóleo, a través de sus flavonoides tiene actividad contra: *Bacillus subtilis*, *Bacillus de Koch*, *Staphylococcus aureus*, *Streptomyces sobrinus*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus cricetus*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Shigella*, *Giardia lamblia*, *Bacteroides nodosos*, *Klebsiella pneumoniae*, incluso, contra *Streptococcus pyogenes* (Mirzoeva, Grishanin, & Calder, 1997).

Mot, Daniela; Tîrziu, Emil; Nichita, LLeana (2014), demostraron el poder antibiótico *in vitro* del Extracto Etanólico de Propóleo (EEP) analizando seis especies de bacterias responsables de infecciones graves en los animales de granja, señalan que ninguna mostró resistencia al EEP y que el grado de sensibilidad varió; la especie más sensible el *Staphylococcus aureus*, seguido de *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella spp.*, *Streptococcus suis* y *Pasteurella haemolytica*; y concluyen que existe la posibilidad de utilizar el propóleo como un agente antibacteriano alternativo.

Galarza Álvarez (2013), utilizó el extracto etanólico de propóleo a diferentes concentraciones (10 y 30%) para determinar el efecto antimicrobiano *in vitro* del propóleo contra *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* presentes en metritis puerperal bovina, obteniendo inhibición efectiva contra el *Staphylococcus aureus*.



Kročko, Miroslav; et al., (2012) y Tekeli, A.; et al., (2010), analizaron el efecto sobre el patrón de colonización bacteriana en el tracto gastrointestinal de pollos de engorde, después de la inclusión de 400 y 800 mg de EEP/Kg de alimentos, en sus dietas; concluyendo que dicho patrón puede verse afectado por la inclusión de propóleo, debido a que estimula la proliferación de bacterias del ácido láctico y disminuye significativamente las bacterias patógenas, como consecuencia de su poder antibiótico.

2.6.4.2.- Propiedad Inmunoestimulante

La eficacia inmunoestimulante del propóleo, se determina mediante la capacidad de producir citoquinas (Farré, Frasquet , & Sánchez , 2004). Los flavonoides tienen la capacidad específica de activar los linfocitos T, citotóxicos y las células NK o asesina natural; esto se debe a la inhibición de la enzima ciclooxigenasa, la cual tiene por función participar en la síntesis de las prostaglandinas encargadas de suprimir la acción de los linfocitos T (Muñoz Rodríguez, Linares Villalba, & Narváez Solarte, 2011).

Ziaran , Rahmani, & Pourreza (2005), analizaron el efecto del propóleo, sobre el sistema inmune de pollos de engorde, afirmando que tanto la respuesta inmune humoral y la inmune celular se puede modular mediante la utilización de diferentes niveles de propóleo en la dieta (40 a 70 mg/kg). Con esto concuerda Khodanazary, Tatar, & Khezri (2013) quienes concluyen que la administración de suplementos de propóleo aumenta el crecimiento y mejora la respuesta humoral de los pollos de engorde.

Otro estudio realizado por Luna (2011), quien analizó al propóleo como promotor inmunológico, estudiando parámetros zootécnicos, concluyó que no existía diferencias entre las aves suplementadas con propóleo y las aves tratadas de manera convencional, afirmando la posibilidad del uso del propóleo como potencial promotor inmunológico.

Según Galal, Abd El - Motaal, & Zaki (2008), el uso de propóleo en gallinas ponedoras, replica el efecto de anteriores estudios, ya que aumenta la masa, el grosor de la



cáscara y el porcentaje del huevo producido, incrementa también el nivel de hematocrito, proteínas totales del plasma y globulina. Concluyen que la suplementación de propóleo en 100 o 150 mg/ kg de alimento, es beneficioso para mejorar el rendimiento, la inmunidad y para explotar todo el potencial genético de las gallinas ponedoras comerciales.

2.6.4.3.- Propiedades en el Comportamiento Productivo:

La búsqueda actual de alternativas a los promotores de crecimiento tradicionales en avicultura, es ardua; es así que algunos estudios plantean el uso de este derivado apícola como una alternativa.

Tal es el caso de Khojasteh, Shalmany; Shivazad (2006), quienes investigaron el rendimiento productivo de pollos Ross 308 incluyendo en sus dietas extracto etanólico de propóleo a diferentes niveles; sus resultados indicaron un aumento en: peso promedio, consumo de alimento, eficiencia alimenticia y también se mostró reducción en la tasa de mortalidad, recomendando una dosis óptima de inclusión en la dieta de 200 a 250 mg/kg. Otros autores Hascik, Peter; Krocko, Miroslav; Garlik, Jozef (2014), replicaron el estudio, encontrando una mejora significativa en los parámetros productivos, sentenciando que sus mejores resultados los obtuvieron con un nivel de inclusión de extracto etanólico de propóleo de 400 mg/kg. Datos que ciertamente concuerdan con Kleczek & Wilkiewicz-Wawro (2014) quienes concluyen que potencialmente los niveles de inclusión de Extracto de propóleo oscilan entre 100 a 500 mg/ Kg de alimento, recomendando seguir con las investigaciones hasta encontrar niveles de inclusión óptimos exactos.



III.- MATERIALES Y MÉTODOS:

3.1.- MATERIALES:

3.1.1.- Físicos:

- Galpón
- Comederos
- Bebederos
- Campana Criadora
- Bomba de fumigar
- Termómetros
- Balanza
- Equipo de limpieza
- Baldes
- Carretilla
- Ropa de trabajo
- Cámara fotográfica
- Registros

3.1.2.- Químicos:

- Propóleo
- Balanceado
- Vitaminas
- Alcohol Etílico
- Desinfectantes
- Detergente

3.1.3.- Biológicos:

- Pollos BB cobb 500
- Vacunas

3.1.4.- De oficina:

- Computadora
- Cuaderno
- Esferos - Lápices
- Hojas de campo
- Libros
- Tableros
- Carpetas

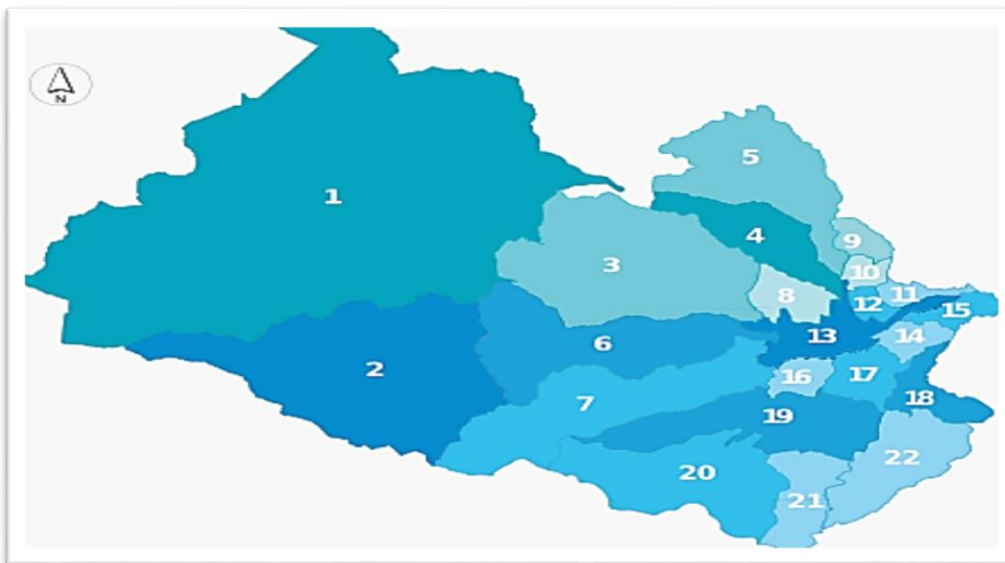


3.2.- MÉTODOS:

3.2.1.- Área de Estudio:

- El estudio se llevó a cabo en la Granja Experimental “Irquis”, perteneciente a la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad de Cuenca; esta se encuentra localizada en la parroquia Victoria del Portete del cantón Cuenca provincia del Azuay, a una altitud de 2.664 m.s.n.m.
 - Latitud: 9659716 N
 - Longitud : 714132 E
 - Temperatura promedio: 16 °C
 - Pluviosidad : 960 mm

Figura 2. División Política Territorial de las Parroquias Rurales del Cantón Cuenca.



1.- Molleturo; 2.- Chaucha; 3.- Sayausí; 4.Chiquintad; 5.Checha; 6.San Joaquín; 7. Baños; 8. Sinicay; 9. Octavio Cordero Palacios; 10.Sidcay; 11.LLacao; 12. Ricaurte; 13.Cuenca; 14. Paccha; 15.Nulti; 16. Turi; 17. El Valle; 18.Santa Ana; 19.Tarqui; 20. Victoria del Portete; 21. Cumbe; 22. Quingeo.

Fuente: (I. Municipalidad de Cuenca, 2011)



3.2.2.- Metodología para la Investigación Experimental:

Para esta investigación, se utilizaron 400 pollos mixtos de la estirpe Cobb 500, de un día de edad, con un peso promedio de 38 gr, distribuidos aleatoriamente en unidades experimentales para su estudio.

3.2.2.1.- Tratamientos:

Se utilizaron 4 tratamientos con diferentes dosis de Extracto Etanólico de Propóleo (EEP) en la dieta. **T1** control, sin la adición de antibiótico promotor de crecimiento, ni de EEP; **T2** adición de 200 mg de EEP/Kg de alimento; **T3** adición de 300 mg de EEP/Kg de alimento y **T4** adición de 400 mg de EEP/Kg de alimento.

Las dietas experimentales, fueron elaboradas en una planta de balanceados local. El EEP fue incluido directamente en el alimento al momento de su preparación, para ello se tomó en cuenta las proporciones descritas anteriormente. Todas las dietas contaron con la supresión del antibiótico promotor de crecimiento en su formulación.

3.2.2.2.- Diseño Experimental:

En la investigación se emplearon 400 pollos mixtos de la estirpe Cobb 500, de un día de edad con un peso promedio de 38 gr; se utilizó un diseño de bloques completamente al azar, con 4 tratamientos y 5 repeticiones, con un total de 20 unidades experimentales, conformadas por 20 pollos cada unidad.

3.2.2.2.1.- Unidades experimentales:

Las unidades experimentales que se emplearon en este estudio, fueron distribuidas dentro de un galpón de 98 m²; cada unidad midió 2,5 m de largo por 1 m de ancho, y contaron con un comedero de tolva manual y un bebedero automático.



3.2.2.2.2.- Variables a evaluarse:

- Variable independiente:
 - Dietas alimenticias con inclusión de propóleo
- Variable dependiente:
 - Población bacteriana intestinal, (log UFC/gr).
 - Morfometría de vellosidades intestinales, (μm).
 - Peso en gr. de pollos
 - Ganancia media de peso (GMP), gr.
 - Consumo de alimento, gr.
 - Índice de conversión alimenticia (ICA).
 - Mortalidad, %.
 - Índice de productividad (IP).
- Covariable:
 - Peso inicial, gr.

3.2.2.2.3.- Análisis estadístico:

- Se utilizó un Análisis de Covarianza (ANCOVA), en un Diseño de Bloques Completamente al Azar, con 4 tratamientos y 5 repeticiones.

Modelo Matemático:

$$Y_{ij} = \mu + t_i + \hat{\beta}_j(x_i - x_{..}) + e_{ij}$$

En Donde:

Y_{ij} = Variable dependiente.

μ = Media de la población.

t_i = Efecto de los tratamientos.

B_j = Efecto del bloque.

e_{ij} = Efecto del error experimental.



- Las variables fueron analizadas mediante las pruebas de: Kolmogórov-smirnov y Shapiro-wilk para analizar si tienen normalidad; y la prueba de Levene para determinar la uniformidad de las varianzas. Las variables que no cumplieron estas condiciones, fueron tratadas como variables no paramétricas, y sometidas a la prueba de Kruskal Wallis.
- Para establecer significancias entre los tratamientos, se empleó la prueba Bonferroni, con un nivel de significancia del 5 %.
- Se manejaron Intervalos de Confianza al 95% para promedios y para las diferencias de promedios se utilizó la prueba de Bonferroni al 95%.

3.2.2.3.- Manejo del experimento:

3.2.2.3.1.- Obtención del Extracto Etanólico de Propóleo (EEP):

El propóleo es insoluble en agua y solo se puede solubilizar utilizando solventes específicos; el solvente más utilizado es el alcohol etílico en diferentes concentraciones. Mediante esta extracción con alcohol se garantiza la total participación de las sustancias que constituyen el propóleo y el compuesto final es el Extracto Etanólico de Propóleo (EEP).

El propóleo bruto se obtuvo del apiario de propiedad del Dr. Luis Galarza, que se encuentra ubicado en el Sector de Buenos Aires, de la Parroquia Sayausí, Cantón Cuenca, Provincia del Azuay; el producto adquirido estuvo libre de impurezas y con la particularidad de ser recolectado a nivel de colmena en lo que se denomina trampa de propóleo.

Una vez obtenido el propóleo bruto, fue procesado en el laboratorio clínico de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad de Cuenca; el procedimiento comenzó macerando 600 gr de propóleo bruto, luego se mezcló con alcohol etílico absoluto al 96 % aforándolo hasta 2000 ml, posteriormente la solución obtenida (2000 ml de extracto) se colocó en un envase de vidrio color ámbar forrado con papel



aluminio; por un lapso de 9 días, se procedió a remover la solución por 15 minutos al día; transcurrido este periodo se filtró la solución, obteniendo finalmente el EEP. Las concentraciones de EEP que se manejó en el estudio, fue al 30 % (es decir 300 gr de propóleo bruto aforado a 1000 ml de alcohol etílico absoluto al 96 %).

El EEP obtenido se lo incluyó directamente en la formulación y preparación de la dieta (mezclándolo con las demás partes de la dieta, como un ingrediente más de la misma); la dosificación se hizo en base a 200, 300 y 400 mg de EEP por cada kg de alimento preparado.

3.2.2.3.2.- Manejo Zootécnico:

Manejo previo a la recepción de las aves: se cumplió con todas las normas de bioseguridad y ambiente para que el galpón proporcione al pollo BB un ambiente de confort.

Al iniciar el experimento, se procedió al pesaje individual de las aves a emplearse, estos valores conformaron la Covariable.

Durante el experimento, se llevó un control adecuado de luz, temperatura y ventilación; el programa de iluminación para los 7 primeros días consistió de un fotoperiodo de 24 horas de luz artificial, y a partir del día 8 se le proporcionó luz natural; la temperatura fue proporcionada con campanas criadoras de gas, para iniciar la temperatura fue de 33°C luego se redujo gradualmente 3°C hasta llegar a la temperatura ambiente, aproximadamente a la cuarta semana de edad; la ventilación fue controlada mediante el uso de cortinas de polipropileno internas y externas, para el manejo interno de la ventilación se empleó el sistema tipo túnel.

3.2.2.3.3.- Manejo Sanitario:

El manejo sanitario fue el mismo para todas las unidades experimentales, desde el día de recepción del pollo BB hasta la finalización del experimento.



Del día 1 al día 5 del experimento se le suministro al pollo BB suplemento vitamínico para ayudar al desarrollo y crecimiento del pollo y un antibiótico de amplio espectro a base de Tilosina 25mg, Eritromicina 50mg y Oxitetraciclina 20mg, utilizada a la dosis mínima, 1g por litro de agua, éste antibiótico fue utilizado para prevenir la proliferación de bacterias que podía provocar el estrés al momento del transporte del pollo bb hasta la granja.

El calendario de vacunación fue: día 7 Newcastle y Gumboro, por vía ocular y nasal respectivamente, y el refuerzo se lo aplicó al día 18 para Gumboro y el día 21 para Newcastle, en el agua de bebida.

3.2.2.3.4.- Manejo Nutricional:

El programa nutricional se adaptó a los requerimientos nutricionales de la estirpe Cobb 500 (Cobb, 2012) en dos fases: iniciación (0-21 días de edad) y finalización (22 días de edad al mercado). La presentación del alimento fue en harina y en sacos de 40 kg para todas las fases.

Los porcentajes de proteínas y valores de energía metabolizable manejados variaron dependiendo de la fase nutricional:

- ✓ Iniciación con 22% de proteína y 3000 Kcal/Kg de energía metabolizable
- ✓ Finalización con 18,25 % de proteína y 3175 Kcal/Kg de energía metabolizable.

La alimentación fue ad libitum desde el día 1 hasta el día 6, a partir de ahí y hasta finalizar el experimento se recurrió a una restricción alimenticia de tipo cuantitativa, suprimiendo el alimento a partir de las 16 h00, hasta las 7h00 del día siguiente que se proporcionó el alimento nuevamente. Se suministró agua limpia todos los días.

Las dietas fueron elaboradas cada 2 semanas y en su preparación se adicionó los diferentes niveles de propóleo mencionados anteriormente; estas dietas fueron formuladas y elaboradas por una planta de balanceados local.



Tabla 2. Perfil Nutricional de las dietas experimentales

Item	Iniciador				Finalizador			
	0 - 21 d				22 d - Mercado			
	T1	T2	T3	T4	T1	T2	T3	T4
Ingredientes. %								
Maíz Molido	55,75	55,64	55,61	55,54	62,64	62,52	62,46	62,40
Pasta de Soya	35,20	35,22	35,22	35,23	29,45	29,47	29,48	29,50
Aceite de Palma	2,90	2,93	2,92	2,95	3,28	3,31	3,33	3,34
Fosfato Dicálcico	2,10	2,10	2,10	2,10	1,03	1,03	1,03	1,03
Carbonato de Calcio	1,05	1,05	1,05	1,05	1,10	1,10	1,10	1,10
Núcleo Inicial Campero	3,00	3,00	3,00	3,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Núcleo Final Campero	0,00	0,00	0,00	0,00	2,50	2,50	2,50	2,50
Extracto de Propóleo (30)%*	0,00	0,067	0,100	0,133	0,00	0,067	0,100	0,133
Total	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00

*100% orgánico

3.2.2.3.5.- Toma de Muestras:

Para el estudio microbiológico e histológico, se sacrificó 1 ave por repetición a los 21 y 42 días, dando un total de 5 aves por cada tratamiento, se realizó mediante dislocación cervical y degollamiento respectivamente; estas aves fueron tomadas de las unidades experimentales de forma aleatoria.

El motivo por el cual se escogió los 21 días de edad del ave para el primer análisis, es debido a que a esta edad se cuenta con una microflora bacteriana intestinal establecida y estable y el desarrollo de las vellosidades intestinales se ha puesto en total manifiesto; de igual forma se realizó la segunda evaluación a los 42 días de edad del ave, aceptando las nuevas tendencias del ciclo productivo del pollo de engorde, las cuales rondan en ese tiempo. Con los días establecidos para la evaluación, también se pudo separar las fases de crecimiento (termina a los 21 días) y de finalización o engorde de los 22 días hasta el mercado) obteniendo datos de las dos etapas y valorando sus relaciones.



Las muestras obtenidas, fueron procesadas y analizadas en el laboratorio clínico CLINSA para el estudio microbiológico y para el estudio histológico fueron procesadas en el laboratorio BIOMICROLAB y analizadas en el laboratorio de la Facultad de Ciencias Agropecuarias.

PROTOSCOLOS:

- ✓ **Análisis Microbiológico:** Se tomaron aproximadamente 5 cm. de la parte media del Íleon, se anudaron los extremos y se colocaron las muestras en bolsas estériles rotuladas las mismas que fueron llevadas al laboratorio para su procesamiento; El contenido intestinal, fue sometido a diferentes diluciones (10^{-6} a 10^{-8}), posteriormente se tomó 1 ml de la dilución formada para sembrarla en el medio de cultivo de placas Petrifilm® específicas para cada bacteria en análisis. Las placas fueron puestas en incubación durante 48 horas a 32°C , finalmente se realizó el conteo de colonias resultantes tomando en cuenta los parámetros establecidos por las placas Petrifilm®.
- ✓ **Análisis Histológico:** Se recogió segmentos de 3 cm. de la porción media del duodeno, se procedió a lavarlos con agua destilada para eliminar el contenido intestinal y posteriormente fueron depositados en envases plásticos estériles con formol al 10%. El procesamiento histológico empezó con la fijación de la muestra en parafina, luego con la ayuda de un micrótopo se realizó 2 cortes con 7 mm de espesor, los mismos que fueron teñidos con Hematoxilina-Eosina, a estos cortes se los dejó secar por 15 días para una mejor fijación; obteniendo finalmente la placa histológica lista para su valoración.

3.2.2.4.- Toma de datos:

- *Población bacteriana:* Se realizó el recuento de las UFC (Unidades Formadoras de Colonias) separándolas en: Flora benéfica (*Lactobacillus* y *Bifidobacterium*) y patógenas (*Escherichia coli* y Coliformes totales). Los resultados están



presentados en log UFC/gr de muestra; se realizó dos recuentos bacterianos durante todo el experimento.

- *Morfometría de vellosidades intestinales*: Se determinaron los valores referentes a altura y ancho de las vellosidades; para ello se midió al azar 10 vellosidades por cada corte histológico, dando un total de 20 vellosidades medidas por cada placa histológica (en cada placa se presentaron 2 cortes histológicos), y se trabajó con una media estadística (\bar{X}) por cada placa. Se utilizó un microscopio micrométrico y un sistema analizador de imagen computarizado; se cumplió con dos mediciones en todo el experimento, y los valores están expresados en micrómetros (μm).

El procedimiento seguido, fue sustentado en protocolos empleados en varias investigaciones dirigidas al estudio de vellosidades intestinales en aves.

- Los datos referentes a: peso, ganancia media de peso (GMP), consumo de alimento, índice de conversión alimenticia (ICA) y porcentaje de mortalidad, fueron obtenidos y registrados semanalmente en hojas de campo previamente diseñadas.
- El Índice de Productividad se obtuvo al finalizar el experimento, mediante la aplicación de la siguiente formula:

$$\mathbf{IP} = \frac{\text{GMDP} \times \text{Viabilidad}}{\text{ICA} \times 10}$$

3.2.2.5.- Procesamiento de Datos:

Los datos obtenidos en la investigación fueron tabulados y procesados, mediante el programa Microsoft Excel. Para el análisis de los datos se empleó el paquete estadístico IBM® SPSS® Statistics Versión 22.



IV.- RESULTADOS Y DISCUSION

Los resultados derivados de esta investigación, revelan la influencia que tiene el Extracto Etanólico de Propóleo (EEP) sobre la población bacteriana y la morfometría de vellosidades intestinales, cuando es dosificado en dietas para pollos de engorde.

4.1.- Microflora bacteriana intestinal

Tabla 3. Microflora bacteriana a nivel de íleon, por tratamiento log UFC/g.

	TRATAMIENTO									
	T1		T2		T3		T4		Total	
Bacterias, Log UFC/gr.	Media	EE	Media	EE	Media	EE	Media	EE	Media	EE
21 días										
E.Coli	1.84	0.33	1.72	0.40	1.33	0.17	1.65	0.28	1.64	0.15
Coliformes Totales	1.73	0.30	1.11	0.05	1.14	0.05	1.43	0.19	1.35	0.10
Bacterias Lácticas	5.07	0.20	4.59	0.61	5.54	0.11	5.43	0.32	5.16	0.19
42 días										
E.Coli	1.81b	0.18	1.16a	0.05	1.20a	0.05	1.60ab	0.12	1.44	0.08
Coliformes Totales	2.28b	0.20	1.58ab	0.19	1.44a	0.15	1.94ab	0.08	1.81	0.10
Bacterias Lácticas	4.40b	0.09	5.75a	0.08	5.59a	0.19	5.72a	0.08	5.37	0.14

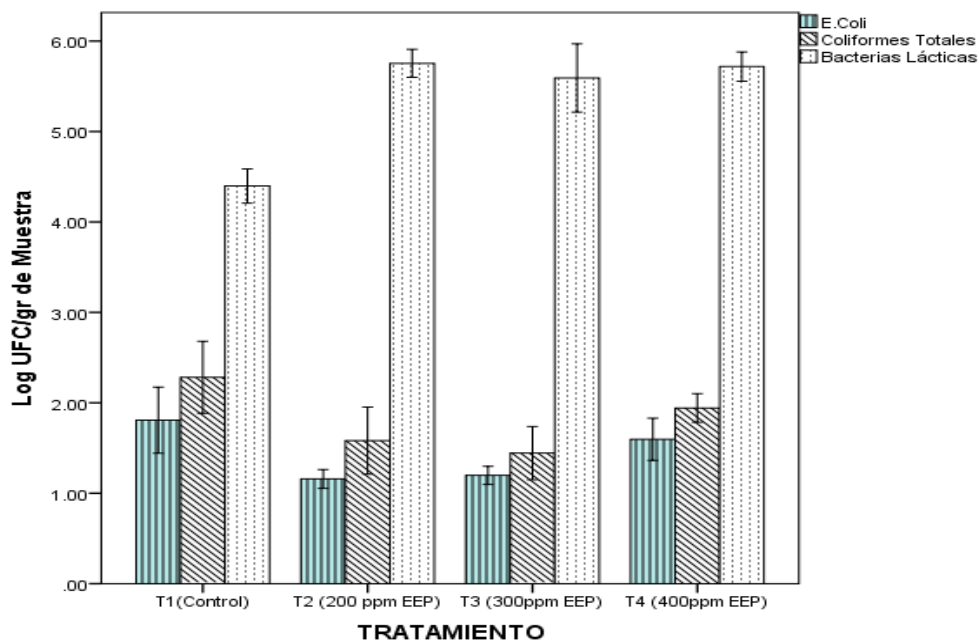
T1= Control, sin aditivo, T2= 200 mg de Extracto etanólico de propóleo por Kg de alimento, T3= 300 mg de Extracto Etanólico de Propóleo por kg de alimento, T4= 400 mg de Extracto Etanólico de propóleo por kg de alimento. (a,b,c) promedios con letras diferentes en sentido horizontal indican significancia estadística, (p<0.05) con la prueba de Bonferroni. EE= error estándar de las medias

Los resultados sobre población bacteriana intestinal: *Escherichia coli*, *Coliformes totales* y *bacterias del ácido láctico*, obtenidos a los 21 y 42 días de edad del pollo, se resumen en la tabla 3. Se observaron diferencias significativas (p<0.05) a los 42 días de edad del pollo, para todas las bacterias analizadas. La mayor población de *Escherichia coli* fue observada en el tratamiento control con 1.81 log UFC/gr y la menor población en los tratamiento 2 (200 ppm) y 3 (300 ppm) con 1.16 y 1.20 log UFC/gr respectivamente. La menor cantidad de bacterias Coliformes totales se presentó en el tratamiento 3 (300 ppm) con 1.44 log UFC/gr y la mayor población se obtuvo en el tratamiento control con 2.28 log UFC/gr, quedando los tratamientos restantes en una



posición intermedia. La más alta concentración de bacterias del ácido láctico fue para los tratamientos 2 (200 ppm), 3 (300 ppm) y 4 (400 ppm) con 5.75, 5.59 y 5.72 log UFC/gr respectivamente, siendo estos mejor que el tratamiento control quien registró 4.40 log UFC/gr. Estos valores concuerdan con los reportados por Kročko, Miroslav; et al., (2012) quienes reportan una reducción en el recuento de Enterobacterias y un incremento de bacterias del ácido láctico a nivel intestinal, al incluir 400 ppm de EEP en la dieta; no así Mahmoud, Abdel-Mohsein, & Mahmoud (2014) manifiestan que aves alimentadas con diferentes niveles de EEP (100, 250 y 750 ppm) no presentaron disminución en el número de bacterias Coliformes a nivel intestinal, al utilizar pollos de la estirpe Ross 308, manejados en galpones con ambiente controlado.

Figura 3. Población de bacterias Intestinales a nivel de Íleon en pollo de engorde a los 42 días de edad log UFC/g.



Nota: Líneas segmentadas indican Barras de Error Estándar.



4.2.- Morfometría de vellosidades intestinales

Tabla 4. Morfometría de vellosidades intestinales en pollos de engorde.

		TRATAMIENTO									
		T1		T2		T3		T4		Total	
Edad		Media	EE	Media	EE	Media	EE	Media	EE	Media	EE
Altura de la Vellosidad, μm											
21		1306.01	74.15	1429.52	66.83	1285.66	53.89	1505.33	28.07	1381.63	33.86
42		1485.48b	55.32	1566.02ab	20.08	1638.40a	11.54	1617.46ab	8.90	1576.84	19.40
Ancho de la Vellosidad, μm											
21		97.42	2.49	101.02	3.93	105.06	2.73	104.23	3.18	101.93	1.59
42		103.22	6.26	99.46	2.97	100.93	2.07	99.72	1.09	100.83	1.71

T1= Control, sin aditivo, T2= 200 mg de Extracto etanólico de propóleo por kg de alimento, T3= 300 mg de Extracto etanólico de propóleo por kg de alimento, T4= 400 mg de Extracto etanólico de propóleo por kg de alimento.

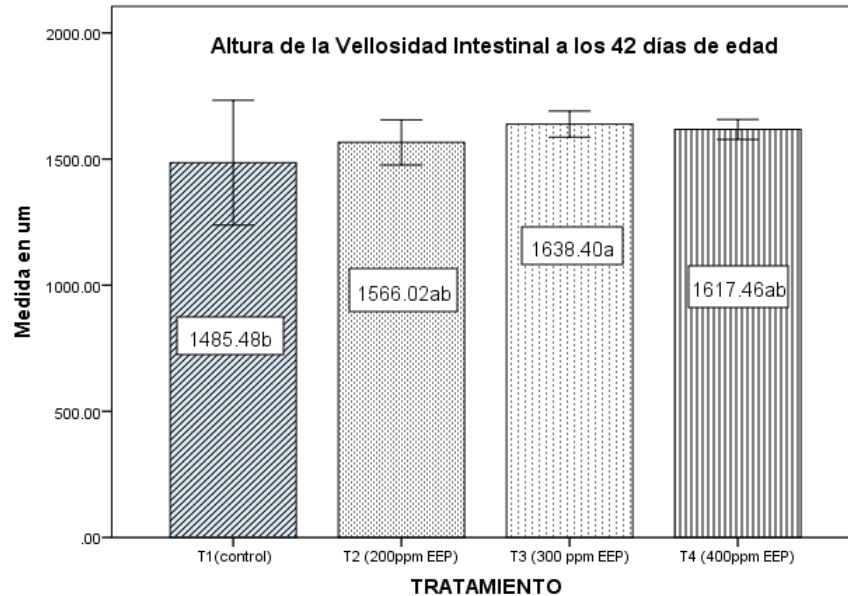
(a,b,c) promedios con letras diferentes en sentido horizontal indican significancia estadística, ($p < 0.05$) con la prueba de Bonferroni.

EE= error estándar de las medias

En lo referente a morfometría de vellosidades intestinales (Tabla 4), no se encontró diferencias significativas en altura y ancho de la vellosidad a los 21 días de edad del pollo. En contraste, a los 42 días de edad se encontraron diferencias estadísticas significativas ($p < 0.05$) en altura de vellosidad, siendo el mayor valor el encontrado en el tratamiento 3 con 1638.40 μm , seguido de los tratamientos 4 y 2 con 1617.46 μm y 1566.02 μm respectivamente, el tratamiento control obtuvo el valor más bajo con 1485.48 μm .; estos resultados concuerdan con los obtenidos por Tekeli, A.; Kutlu, H.R.; Celik, L.; Doran, F. (2010) sobre la mejora morfométrica de vellosidades intestinales en aves suplementadas con propóleo. Es importante recalcar que los valores morfométricos de las vellosidades en altura a los 42 días de edad, se vieron reflejados en los pesos finales de los tratamientos 2, 3 y 4 del experimento, que a pesar de no encontrarse diferencias estadísticas fueron mejores numéricamente que el tratamiento control (T1), lo que concuerda con Yason & Schat (1987) quien manifiesta que un alargamiento de la vellosidad indica una rápida reconversión del tejido y una alta demanda por nuevos tejidos.



Figura 5. Altura de vellosidades intestinales, a los 42 días de edad en pollos de engorde.



Nota: Líneas segmentadas indican Barras de Error Estándar.

4.3.- Peso final, Ganancia media de peso, Consumo de alimento e Índice de conversión

En cuanto al peso, no se encontraron diferencias significativas durante el experimento (Tabla 5), sin embargo se registraron diferencias numéricas de los pesos finales entre los tratamientos 4 (3233.47 gr), 3 (3208.62 gr) y 2 (3202.97 gr) frente al tratamiento control (3163.48 gr); la ganancia media de peso, consumo de alimento e índice de conversión, se comportaron de manera semejante al no observarse diferencias estadísticas significativas durante y al finalizar el experimento. Los resultados expresados sobre estas variables, son similares a los encontrados por Kleczek & Wilkiewicz-Wawro (2014) quienes determinaron la poca influencia del EEP sobre el comportamiento productivo, en contraste los resultados difieren de otras investigaciones similares como la de Khojasteh, Shalmany; Shivazad, (2006) quienes encontraron una mejora en el peso promedio, consumo de alimento, y eficiencia alimenticia de pollos suplementados con EEP a diferentes niveles frente a un testigo, recomendando una dosis óptima de inclusión en la dieta de 200 a 250 ppm de EEP.



Tabla 5. Peso, Ganancia Media de Peso, Consumo de Alimento y Conversión Alimenticia en pollos de engorde.

Edad	TRATAMIENTO									
	T1		T2		T3		T4		Total	
	Media	EE	Media	EE	Media	EE	Media	EE	Media	EE
Peso Corporal, gr										
0	38.32	0.18	38.24	0.31	38.17	0.31	37.46	0.35	38.05	0.16
7	147.46	1.80	147.34	3.25	150.48	1.10	150.77	1.18	149.01	1.00
14	320.61	6.30	332.69	3.14	327.67	4.11	332.52	4.77	328.37	2.44
21	659.22	5.38	658.75	4.10	672.65	9.08	670.92	11.22	665.39	3.94
28	1147.22	19.61	1184.35	6.14	1167.74	12.22	1197.95	15.47	1174.32	7.85
35	1754.06	31.36	1784.03	12.48	1769.65	25.45	1809.09	22.80	1779.21	11.96
42	2575.91	36.14	2611.82	22.97	2586.29	20.96	2627.56	30.20	2600.40	13.77
49	3163.48	37.85	3202.97	40.28	3208.62	70.99	3233.47	28.85	3202.13	22.43
Ganancia Media de Peso, gr/día										
7	15.60	0.23	15.58	0.49	16.04	0.17	16.18	0.17	15.85	0.15
14	24.72	0.93	26.48	0.51	25.30	0.66	25.98	0.59	25.62	0.35
21	48.36	1.21	46.60	0.56	49.26	1.06	48.36	1.20	48.14	0.53
28	69.72	2.12	75.10	0.89	70.74	0.55	75.30	1.02	72.72	0.83
35	86.69	1.79	85.67	1.02	85.99	2.09	87.31	1.39	86.41	0.76
42	117.40	3.22	118.26	1.92	116.66	2.23	116.92	2.66	117.31	1.18
49	83.94	3.05	84.45	5.76	88.90	8.52	86.56	2.17	85.96	2.55
Acum.	63.78	0.77	64.59	.82	64.70	1.45	65.23	0.58	64.57	0.46
Consumo de Alimento, gr/semana										
7	125.11	2.18	126.05	1.52	131.76	0.68	128.97	1.91	127.97	0.97
14	206.92	3.23	211.83	9.19	216.02	5.29	217.37	4.69	213.03	2.91
21	439.07	12.97	446.00	5.24	457.56	9.55	450.02	10.43	448.16	4.81
28	740.19	21.24	741.32	12.50	759.78	18.30	744.46	11.39	746.44	7.73
35	1047.63	26.74	1057.84	15.73	1072.28	17.89	1051.87	10.60	1057.41	8.83
42	1310.34	23.57	1278.53	13.10	1299.58	22.33	1289.34	14.11	1294.45	9.07
49	1438.30	24.48	1431.86	22.73	1421.75	22.44	1443.92	18.69	1433.96	10.35
Acum.	5307.56	95.47	5293.42	49.72	5358.73	70.14	5325.94	62.85	5321.41	33.29
Conversión, gr/gr										
7	0.85	0.01	0.86	0.02	0.88	0.01	0.86	0.01	0.86	0.01
14	1.04	0.01	1.01	0.02	1.06	0.02	1.04	0.02	1.04	0.01
21	1.17	0.01	1.19	0.02	1.20	0.02	1.19	0.01	1.19	0.01
28	1.32	0.01	1.29	0.01	1.34	0.02	1.29	0.01	1.31	0.01
35	1.46	0.02	1.45	0.01	1.49	0.02	1.44	0.01	1.46	0.01
42	1.50	0.02	1.48	0.01	1.52	0.01	1.48	0.01	1.49	0.01
49	1.68	0.03	1.65	0.01	1.67	0.03	1.65	0.01	1.66	0.01

T1= Control, sin aditivo T2= 200 mg de Extracto etanólico de propóleo por kg de alimento, T3= 300 mg de Extracto etanólico de propóleo por kg de alimento, T4= 400 mg de Extracto etanólico de propóleo por kg de alimento.EE= error estándar de las medias



4.4.-Mortalidad

Tabla 6. Mortalidad en pollos de engorde.

Semana	TRATAMIENTO									
	T1		T2		T3		T4		Total	
	Media	EE	Media	EE	Media	EE	Media	EE	Media	EE
	Mortalidad, %									
1	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	0.46
2	3.00	2.00	0.00	0.00	2.00	1.22	1.00	1.00	1.50	0.64
3	1.00	1.00	2.00	1.22	2.00	1.22	1.00	1.00	1.50	0.53
4	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00	1.00	0.25	0.25
5	2.00	1.22	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00	1.00	0.75	0.41
6	2.00	1.22	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00	1.00	0.75	0.41
7	3.00	2.00	0.00	0.00	1.00	1.00	0.00	0.00	1.00	0.58
Acum	12.00	5.61	3.00	2.00	6.00	3.67	6.00	1.00	6.75	1.79

T1= Control, sin aditivo, T2= 200 mg de Extracto etanólico de propóleo por kg de alimento, T3= 300 mg de Extracto etanólico de propóleo por kg de alimento, T4= 400 mg de Extracto etanólico de propóleo por kg de alimento.
 EE= error estándar de las medias

En lo referente a mortalidad no hubo diferencias estadísticas entre los tratamientos (Tabla 6); los valores de mortandad más altos se registraron en las semanas 1, 2 y 3 del experimento y mayoritariamente fueron por Ascitis. La mortalidad acumulada final se manifestó con diferencias numéricas entre los tratamientos 2, 3 y 4 con un 3%, 6% y 6% respectivamente, frente al tratamiento control que registró un 12%.

4.5.-Indice de Productividad

El índice de productividad no generó diferencias estadísticas significativas, pero se observaron diferencias numéricas entre los tratamientos 2, 4 y 3 frente al tratamiento control (Tabla 7). Estos valores se encuentran por encima del índice de 300, lo que según Juárez Estrada (2009) se encuentra dentro un rango excelente.



Tabla 7. Índice de productividad en pollos de engorde.

TRATAMIENTO									
T1		T2		T3		T4		Total	
Media	EE	Media	EE	Media	EE	Mean	EE	Media	EE
Índice de Productividad									
336.31	26.84	379.17	10.69	361.91	24.83	372.33	6.02	362.43	9.61

T1= Control, sin aditivo, T2= 200 mg de Extracto etanólico de propóleo por kg de alimento, T3= 300 mg de Extracto etanólico de propóleo por kg de alimento, T4= 400 mg de Extracto etanólico de propóleo por kg de alimento.
 EE= error estándar de las medias.



V.-CONCLUSIONES

A partir de los resultados obtenidos, bajo las condiciones del presente estudio podemos concluir que:

La adición de EEP en dietas para pollo de engorde, influye en la población bacteriana intestinal al disminuir bacterias patógenas y estimular el crecimiento de bacterias benéficas.

Los valores referentes a altura de vellosidad intestinal mejoraron significativamente con la adición de EEP en el alimento de pollo de engorde.

En cuanto al comportamiento productivo, no se observó diferencias claras entre los tratamientos y este se mantuvo dentro de los parámetros óptimos de producción.

La adición de EEP en dietas para pollo de engorde, influye directamente en la salud intestinal del ave, pero no demuestra una consecuente mejora en las variables que conforman el comportamiento productivo.



VI.-RECOMENDACIONES:

Emplear EEP como un regulador de la salud intestinal en pollo de engorde.

Evaluar la actividad antibacteriana del propóleo a nivel intestinal, analizando bacterias diferentes a las consideradas en esta investigación.

Profundizar sobre la presentación, dosificación y la forma de administración del propóleo a pollos de engorde, ya que los datos existentes sobre estos aspectos son escasos.

Utilizar propóleo en otras especies de interés zootécnico amparados en estudios que demuestran su poder terapéutico.



VII.- BIBLIOGRAFÍA

- Aguavil Enriquez , J. C. (10 de Abril de 2012). *repositorio.espe.edu.ec*. Recuperado el 05 de Abril de 2015, de *repositorio.espe.edu.ec*: <http://repositorio.espe.edu.ec/bitstream/21000/5213/1/T-ESPE-IASA%20II%20-%20002399.pdf>
- Alfaro, L. E., & Briceño, J. B. (25 de Octubre de 2013). *www.engormix.com*. Recuperado el 29 de Mayo de 2015, de *www.engormix.com*: <http://www.engormix.com/MA-avicultura/sanidad/articulos/importancia-salud-intestinal-aves-t4996/165-p0.htm>
- Apajalahti, J., Kettunen , A., & Graham, H. (2004, Junio). Characteristics of the gastrointestinal microbial communities, with special reference to the chicken. ©*World's Poultry Science Association*, 60, 223-233. Retrieved from https://www.researchgate.net/profile/Anu_Kettunen/publication/248626777_Characteristics_of_the_gastrointestinal_microbial_communities_with_special_reference_to_chickens/links/5523b7770cf27b5dc3796255.pdf
- Araúz, L. C. (Febrero-Marzo de 2015). El Impacto de la salud intestinal en el desempeño de las aves. *Los Avicutores y su entorno*(103), 58-64. Obtenido de <http://bmeditores.mx/salud-intestinal-en-las-aves/>
- Baghbanzadeh , A., & Decuypere, E. (abril de 2008). Ascites syndrome in broilers: physiological and nutritional perspectives. *Avian Pathology*, 37(2), 117-126. Obtenido de <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/03079450801902062>
- Bailey, R. (15 de Octubre de 2013). *www.elsitioavicola.com*. Recuperado el 10 de Abril de 2015, de *www.elsitioavicola.com*: <http://www.elsitioavicola.com/articles/2463/salud-intestinal-en-las-aves-el-mundo-interior-1/>
- Bernabé Salazar, A., Navarro Cámara, J. A., & Pallarés Martínez, F. J. (27 de Mayo de 2013). *Open Courseware Universidad de Murcia*. Recuperado el 18 de Abril de 2015, de Open Courseware Universidad de murcia: <http://ocw.um.es/cc.-de-la-salud/citologia-e-histologia-veterinaria/material-de-clase-1/tema25-intestino.pdf>
- Betancourt López, L. L. (15 de Febrero de 2012). *www.bdigital.unal.edu.co*. Recuperado el 20 de Marzo de 2015, de *www.bdigital.unal.edu.co*: <http://www.bdigital.unal.edu.co/6506/1/787020.2012.pdf>



- Boaro, M. (17 de Junio de 2009). *Engormix*. Recuperado el 18 de Abril de 2015, de Engormix: <http://pt.engormix.com/MA-avicultura/nutricao/artigos/morfofisiologia-trato-intestinal-fisiologia-frango-t165/141-p0.htm>
- Cepero Briz, R. (11 de Enero de 2006). *www.wpsa-aeca.es*. Recuperado el 8 de Marzo de 2015, de www.wpsa-aeca.es: http://www.wpsa-aeca.es/aeca_imgs_docs/wpsa1142587453a.pdf
- Cervantes, H. M. (31 de Agosto de 2011). *www.wattagnet.com*. Recuperado el 28 de Mayo de 2015, de www.wattagnet.com: http://www.wattagnet.com/Integridad_intestinal_en_aves.html
- Cobb. (Abril de 2012). Suplemento Informativo Sobre Rendimiento Y Nutrición De Pollos De Engorde Cobb500. *Cobb 500*. Obtenido de http://www.cobb-vantress.com/languages/guidefiles/fa217990-20c9-4ab1-a54e-3bd02d974594_es.pdf
- Coelho, M., Silva, J., Oliveira, E., Amâncio, A., Silva, N., & Lima, R. (24 de Junio de 2010). <http://www.uco.es/>. Obtenido de <http://www.uco.es/>: http://www.uco.es/organiza/servicios/publica/az/php/img/web/02_11_22_1640REVISIONAPropolisCoelhoB.pdf
- Farré, R., Frasquet, I., & Sánchez, A. (2004). El própolis y la salud. *Ars Pharmaceutica*, 45, 21-43. Obtenido de <http://www.ugr.es/~ars/abstract/45-21-04.pdf>
- Ferrufino, J., Taxa, L., & Angeles, G. (1996). *Rev Med Hered 1996*. Recuperado el 19 de Abril de 2015, de *Rev Med Hered 1996*: <http://www.scielo.org.pe/pdf/rmh/v7n1/v7n1tr2.pdf>
- Galal, A., Abd El - Motaal, A., & Zaki, T. (2008). Productive Performance and Immune Response of Laying Hens as Affected by Dietary Propolis Supplementation. *International Journal of Poultry Science*, 3, 272-278. Retrieved from <http://free-journal.umm.ac.id/files/file/Productive%20Performance%20and%20Immune%20Response%20of%20Laying.pdf>
- Galarza Álvarez, L. (2013). *Determinación del poder antibiótico in vitro del extracto etanólico de propóleo sobre Staphylococcus aureus y Escherichia coli*. Universidad de Cuenca. Cuenca: Universidad de Cuenca. Obtenido de <http://dspace.ucuenca.edu.ec/handle/123456789/538>



- Gava, M. (2012). *Universidade Federal do Rio Grande do Sul*. Recuperado el Abril de 16 de 2015, de Universidade Federal do Rio Grande do Sul: <http://hdl.handle.net/10183/61725>
- Hascik, Peter; Krocko, Miroslav; Garlik, Jozef;. (2014). The effect of propolis extract in the diet of chickens Ross 308 on their performance. *Journal of Central European Agriculture*, 133-146.
- I. Municipalidad de Cuenca. (2011). *Plan de Desarrollo y Ordenamiento Territorial del Canton Cuenca*. I. Municipalidad de Cuenca, Cuenca. Obtenido de <http://www.cuenca.gov.ec/sites/default/files/pdot/modelo.pdf>
- Juárez Estrada, M. A. (2009). Estirpes Comerciales del Pollo Productor de Carne. En J. R. Medero, *Zootécnia Avícola* (págs. 195-209). Coyoacán, Distrito Federal, México.
- Khodanazary, A., Tatar, A., & Khezri, M. (2013, Agosto 23). Effects of Different Dietary Levels of Propolis on Performance, Carcass Characteristics. Zanjan, Iran, Iran.
- Khojasteh, Shalmany; Shivazad;. (2006). The Effect of Diet Propolis Supplementation on Ross Broiler Chicks Performance. *International Journal of Poultry Science*, 84-88. Retrieved from <http://www.pjbs.org/ijps/fin529.pdf>
- Kleczek, K., & Wilkiewicz-Wawro, E. (2014). THE EFFECT OF DIETARY PROPOLIS SUPPLEMENTATION ON THE GROWTH PERFORMANCE OF BROILER CHICKENS. *POLISH JOURNAL OF NATURAL SCIENCES*, 29(2), 105–117. Obtenido de http://www.uwm.edu.pl/polish-journal/sites/default/files/issues/articles/kleczek_et_al._2014.pdf
- Koutsos, E. A., & Arias, V. J. (2006). Intestinal Ecology: Interactions Among the Gastrointestinal Tract, Nutrition, and the microflora. *Poultry Science Association, Inc.*, 15, 161-174. Retrieved from <http://japr.oxfordjournals.org/content/15/1/161.short>
- Kročko, Miroslav; Čanigová, Margita; Bezeková, Jana; Lavová, Monika ; Haščík, Peter; Ducková, Viera;. (2012). Effect of Nutrition with Propolis and Bee Pollen Supplements on Bacteria Colonization Pattern in Gastrointestinal Tract of Broiler Chickens. *Animal Science and Biotechnologies*, 63-67.
- Luna, C. (3 de Mayo de 2011). Estudio del efecto de dos promotores inmunológicos de origen natural (propóleo y polen) y su incidencia en la producción de pollos de



engorde. Ibarra, Imbabura, Ecuador. Obtenido de <http://dspace.pucesi.edu.ec/bitstream/11010/161/1/T72598.pdf>

Mahmoud, M. A., Abdel-Mohsein, H. S., & Mahmoud, U. T. (2014, Marzo 23). Effect of Chinese Propolis Supplementation on Ross Broiler Chicks: Microbial Population in Fecal matter and Litter. *Journal of Advanced Veterinary Research*, 77-54. Retrieved from <http://advetresearch.com/index.php/avr/article/view/292/175>

Mateos, G., Lázaro, R., & Gracia, M. (2002). Modificaciones Nutricionales y Problemáticas digestivas en Aves. *XVIII CURSO DE ESPECIALIZACION FEDNA* (págs. 15-34). Barcelona: FEDNA. Obtenido de https://www.researchgate.net/profile/Gonzalo_Mateos/publication/28179834_Modificaciones_nutricionales_y_problemtica_digestiva_en_aves/links/0fcfd51421a8197bea000000.pdf

Mirzoeva, O., Grishanin, R., & Calder, P. (1997). Antimicrobial action of propolis and some of its components: The effectas on growth, membrane potential and motility of bacteria. *Microbiol Res*, 152(3), 239-246. Obtenido de <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9352659>

Mot, Daniela; Tîrziu, Emil; Nichita, LLeana;. (2014). Study of Bactericidal Properties of Propolis. *Animal Science and Biotechnologies*, 256-259. Retrieved from <http://www.spasb.ro/index.php/spasb/article/view/1719>

Muñoz Rodríguez, L. C., LInares Villalba, S. E., & Narváez Solarte, W. (Julio-diciembre de 2011). PROPIEDADES DEL PROPÓLEO COMO ADITIVO NATURAL FUNCIONAL EN LA NUTRICIÓN ANIMAL. *Biosalud*, 10(2), 101-111. Obtenido de http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1657-95502011000200010

Nunes, M. A. (27 de Abril de 2014). *www.engormix.com*. Recuperado el 13 de Abril de 2015, de [www.engormix.com: http://www.engormix.com/MA-avicultura/sanidad/articulos/ajustando-micro-flora-intestinal-t5944/165-p0.htm](http://www.engormix.com/MA-avicultura/sanidad/articulos/ajustando-micro-flora-intestinal-t5944/165-p0.htm)

Ortíz Martínez, R. (2013). Bases fisiológicas para el uso de Antibióticos Promotores de Crecimiento y preventivo en enfermedades bacterianas intestinales en cerdos y aves. *Virbac al Día*(20), 1-7. Obtenido de <http://www.webveterinaria.com/virbac/news22/cerdos.pdf>

Polaino, C. (2010). *Manual Práctico del Apicultor*. Madrid, España: MMVI Cultural S.A.



- Poultry CRC. (2015). *www.poultryhub.org*. Recuperado el 18 de Abril de 2015, de [www.poultryhub.org: http://www.poultryhub.org/physiology/body-systems/digestive-system/](http://www.poultryhub.org/physiology/body-systems/digestive-system/)
- Root, A. (2000). *ABC y XYZ de la Apicultura: Enciclopedia de la cría científica y Práctica de las Abejas*. Buenos Aires, Argentina: Nueva Edición.
- Ruben Carmona, M. C. (2009). *Zootecnia Avicola* (1 ed., Vol. 1). Mexico: UNAM.
- Saleh, E., Watkins , S., Waldroup, A., & Waldrop, P. (2005). Effects of Early Quantitative Feed Restriction on Live Performance and Carcass Composition of Male Broilers Grown for Further Processing. *J. Appl. Poult. Res.*, 14, 87-93. Obtenido de <https://japr.oxfordjournals.org/content/14/1/87.full.pdf>
- Souza Santana, E., & Rodrigues Mendes, F. (14 de Noviembre de 2011). Uso de productos alternativos aos antimicrobianos na avicultura. *Enciclopédia Biosfera, Centro Científico Conhecer*, 7(13), 985-1010. Obtenido de <http://www.conhecer.org.br/enciclop/2011b/ciencias%20agrarias/uso%20de%20produtos.pdf>
- Sumano López, H., & Gutiérrez Olvera, L. (2010). *Farmacología Clínica en Aves Comerciales* (Cuarta ed.). México D.F., México: Mc Graw Hill Interamericana Editores.
- Tekeli, A.; Kutlu, H.R.; Celik, L.; Doran, F.;. (2010). Determination of the Effects of Z. officinale and Propolis Extracts on Intestinal Microbiology and Histological Characteristics in Broilers. *International Journal of Poultry Science*, 898-906. Retrieved from <http://scialert.net/abstract/?doi=ijps.2010.898.906>
- Yamauchi , K.-e. (Julio de 2002). *Journal of Poultry Science*. Recuperado el 18 de Abril de 2015, de *Journal of Poultry Science*: https://www.jstage.jst.go.jp/article/jpsa/39/4/39_4_229/_pdf
- Yason , C., & Schat , K. (1987). Pathogenesis of rotavirus infection in various age groups of chickens and turkeys: CLinical signs and virology. *Am J Vet Res*, 48-977.
- Ziaran , H., Rahmani, H., & Pourreza, J. (2005). Effect of dietary Oil Extract Of Propolis on Immune Response and Broiler Performance. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 8(10), 1485-1490.



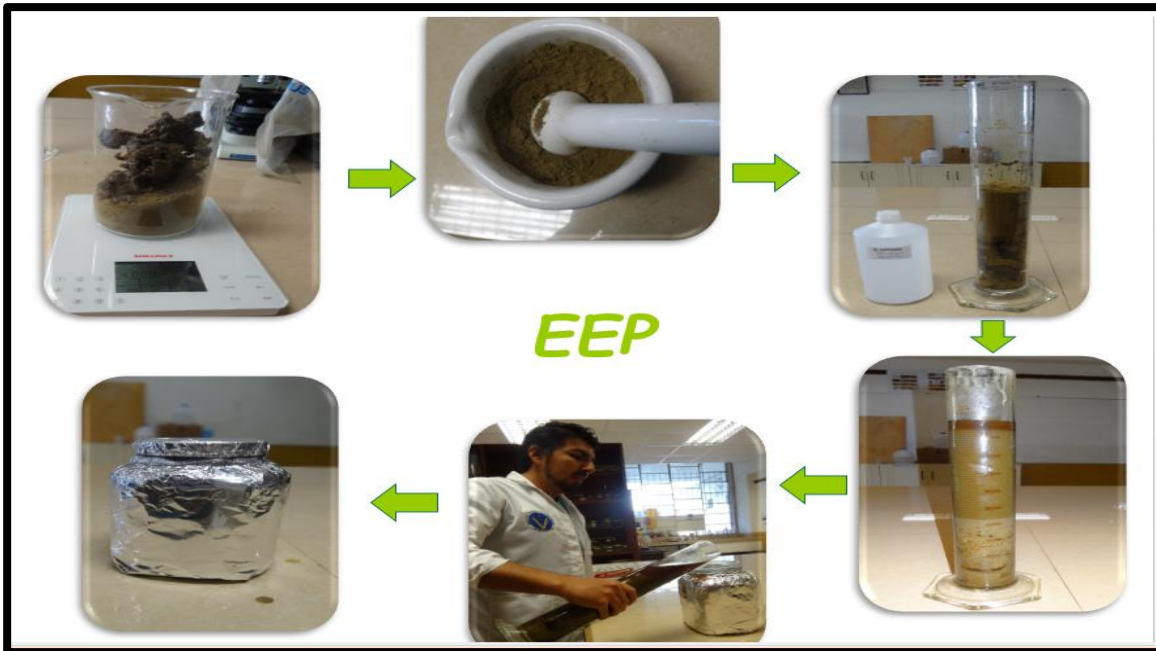
VIII.- ANEXOS:

Anexo 1. Especificación de la disposición de las Unidades experimentales, con el diseño de Bloques al Azar utilizados en la investigación.

R1(B1)	T1	T4
	T2	T3
R2(B2)	T2	T4
	T3	T1
R3(B3)	T4	T2
	T1	T3
R4(B4)	T3	T1
	T2	T4
R5(B5)	T4	T3
	T2	T1

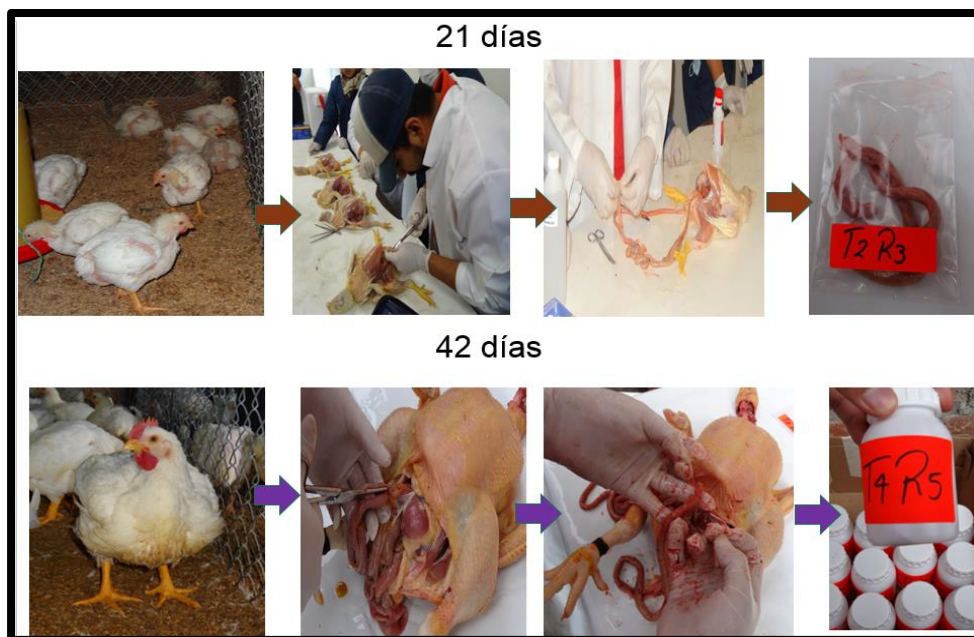
R= repetición; B= Bloque; T=tratamiento

Anexo 2. Elaboración del Extracto Etanólico de Propóleo.



Fuente: Gabriela Castillo - Cristhian Pacheco.

Anexo 3. Toma de muestras a los 21 y 42 días de edad del pollo.



Fuente: Gabriela Castillo - Cristhian Pacheco.

Anexo 4. Procesamiento de muestras para el análisis microbiológico.



Fuente: Gabriela Castillo - Cristhian Pacheco.

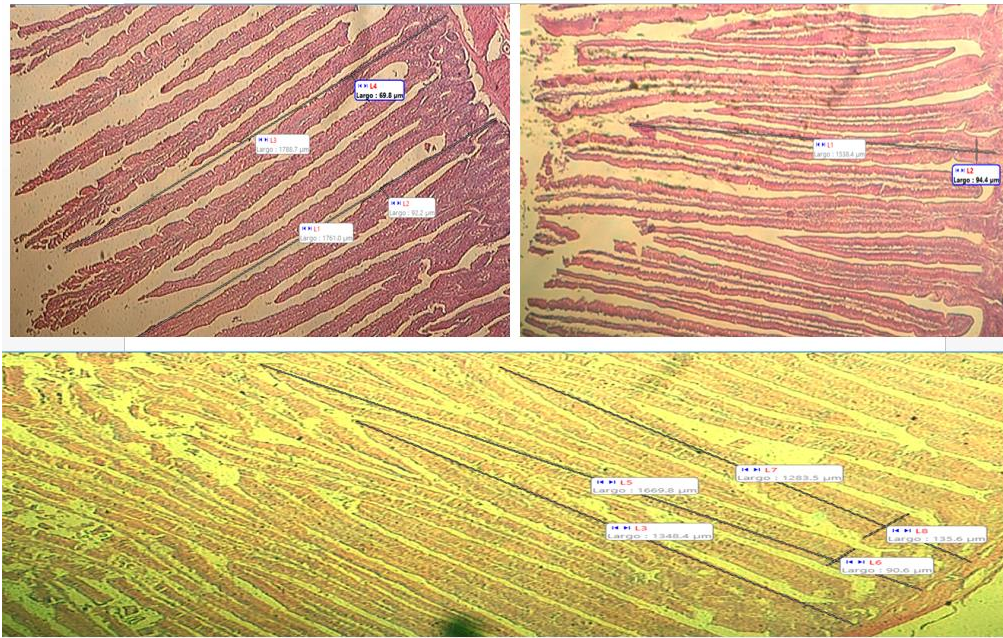
Anexo 5. Medición de vellosidades intestinales con el sistema analizador de imagen computarizado.



Fuente: Gabriela Castillo - Cristhian Pacheco.



Anexo 6. Fotomicrografía de vellosidades intestinales, se evidencia el largo y ancho de la vellosidad.



Fuente: Gabriela Castillo, Cristhian Pacheco.



Anexo 7. Análisis de Covarianza para E. Coli a los 42 días de edad del pollo.

Fuente	Suma de Cuadrados	GL	Media Cuadrática	F	Sig.
Modelo Corregido	1.786 ^a	8	.223	3.297	.035
Intercepto	.247	1	.247	3.649	.082
Tratamiento	1.433	3	.478	7.057	.006
Repetición	.245	4	.061	.905	.494
Covariable	.183	1	.183	2.708	.128
Error	.745	11	.068		
Total	44.002	20			
Corrección Total	2.530	19			

Anexo 8. Prueba de Bonferroni, para E. Coli a los 42 días de edad del pollo.

(I) TRATAMIENTO	(J) TRATAMIENTO	Diferencia de Medias (I-J)	Error Standars	Sig. ^b	95% Intervalo de Confianza para la Diferencia ^b	
					Límite inferior	Límite Superior
T1	T2	.668*	.165	.011	.139	1.198
	T3	.644*	.166	.015	.112	1.176
	T4	.414	.205	.413	-.245	1.072
T2	T1	-.668*	.165	.011	-1.198	-.139
	T3	-.024	.165	1.000	-.553	.504
	T4	-.255	.199	1.000	-.892	.383
T3	T1	-.644*	.166	.015	-1.176	-.112
	T2	.024	.165	1.000	-.504	.553
	T4	-.230	.194	1.000	-.851	.391
T4	T1	-.414	.205	.413	-1.072	.245
	T2	.255	.199	1.000	-.383	.892
	T3	.230	.194	1.000	-.391	.851

Sobre la base de las medias marginales estimadas

*. La diferencia de medias es significativa al nivel .05.

b. Ajuste para la comparación múltiple de: Bonferroni.



Anexo 9. Análisis de Covarianza para Coliformes Totales a los 42 días de edad del pollo.

Fuente	Suma de Cuadrados	GL	Media Cuadrática	F	Sig.
Modelo Corregido	2.435 ^a	8	.304	1.934	.154
Intercepto	.062	1	.062	.392	.544
Tratamiento	2.114	3	.705	4.475	.028
Repetición	.273	4	.068	.434	.782
Covariable	.026	1	.026	.166	.692
Error	1.732	11	.157		
Total	69.870	20			
Corrección Total	4.167	19			

a. R Squared = .584 (Adjusted R Squared = .282)

Anexo 10. Prueba de Bonferroni, para Coliformes Totales a los 42 días de edad del pollo.

(I) TRATAMIENTO	(J) TRATAMIENTO	Diferencia de Medias (I-J)	Error Standar	Sig. ^b	95% Intervalo de Confianza para la Diferencia ^b	
					Límite Inferior	Límite Superior
T1	T2	.707	.252	.102	-.100	1.514
	T3	.851*	.253	.038	.039	1.662
	T4	.416	.313	1.000	-.588	1.420
T2	T1	-.707	.252	.102	-1.514	.100
	T3	.144	.251	1.000	-.663	.950
	T4	-.291	.303	1.000	-1.263	.682
T3	T1	-.851*	.253	.038	-1.662	-.039
	T2	-.144	.251	1.000	-.950	.663
	T4	-.435	.295	1.000	-1.382	.513
T4	T1	-.416	.313	1.000	-1.420	.588
	T2	.291	.303	1.000	-.682	1.263
	T3	.435	.295	1.000	-.513	1.382

Sobre la base de las medias marginales estimadas

*. La diferencia de medias es significativa al nivel .05.

b. Ajuste para la comparación múltiple de: Bonferroni.



Anexo 11. Análisis de Covarianza para Bacterias Lácticas a los 42 días de edad del pollo.

Fuente	Suma de Cuadrados	GL	Media Cuadrática	F	Sig.
Modelo Corregido	6.557 ^a	8	.820	9.992	.000
Intercepto	.276	1	.276	3.368	.094
Tratamiento	5.439	3	1.813	22.103	.000
Repetición	.229	4	.057	.699	.609
Covariable	.072	1	.072	.881	.368
Error	.902	11	.082		
Total	583.231	20			
Corrección Total	7.459	19			

a. R Squared = .879 (Adjusted R Squared = .791)

Anexo 12. Prueba de Bonferroni, para Bacterias Lácticas a los 42 días de edad del pollo.

(I) TRATAMIENTO	(J) TRATAMIENTO	Diferencia de Medias (I-J)	Error Standar	Sig. ^b	95% Intervalo de Confianza para la Diferencia ^b	
					Límite Inferior	Límite Superior
T1	T2	-1.344 [*]	.182	.000	-1.927	-.762
	T3	-1.173 [*]	.183	.000	-1.758	-.587
	T4	-1.193 [*]	.226	.002	-1.918	-.469
T2	T1	1.344 [*]	.182	.000	.762	1.927
	T3	.172	.181	1.000	-.410	.754
	T4	.151	.219	1.000	-.551	.853
T3	T1	1.173 [*]	.183	.000	.587	1.758
	T2	-.172	.181	1.000	-.754	.410
	T4	-.021	.213	1.000	-.704	.663
T4	T1	1.193 [*]	.226	.002	.469	1.918
	T2	-.151	.219	1.000	-.853	.551
	T3	.021	.213	1.000	-.663	.704

Sobre la base de las medias marginales estimadas

*. La diferencia de medias es significativa al nivel .05.

b. Ajuste para la comparación múltiple de: Bonferroni.



Anexo 13. Análisis de Covarianza de altura de vellosidades a los 42 días de edad del pollo.

Fuente	Suma de Cuadrados	GL	Media Cuadrática	F	Sig.
Modelo Corregido	84803.382 ^a	8	10600.423	2.002	.142
Intercepto	6529.457	1	6529.457	1.233	.290
Tratamiento	60693.401	3	20231.134	3.821	.042
Repetición	11618.266	4	2904.567	.549	.704
Covariable	28.450	1	28.450	.005	.943
Error	58235.886	11	5294.171		
Total	49871653.127	20			
Corrección Total	143039.268	19			

a. R Squared = .593 (Adjusted R Squared = .297)

Anexo 14. Prueba de Bonferroni, para altura de vellosidades a los 42 días de edad del pollo.

(I) TRATAMIENTO	(J) TRATAMIENTO	Diferencia de Medias (I-J)	Error Standar	Sig. ^b	95% Intervalo de Confianza para la Diferencia ^b	
					Límite Inferior	Límite Superior
T1	T2	-80.312	46.124	.657	-228.282	67.658
	T3	-152.498*	46.376	.043	-301.279	-3.717
	T4	-129.459	57.384	.272	-313.553	54.635
T2	T1	80.312	46.124	.657	-67.658	228.282
	T3	-72.187	46.094	.874	-220.061	75.687
	T4	-49.147	55.578	1.000	-227.448	129.154
T3	T1	152.498*	46.376	.043	3.717	301.279
	T2	72.187	46.094	.874	-75.687	220.061
	T4	23.039	54.143	1.000	-150.659	196.738
T4	T1	129.459	57.384	.272	-54.635	313.553
	T2	49.147	55.578	1.000	-129.154	227.448
	T3	-23.039	54.143	1.000	-196.738	150.659

Sobre la base de las medias marginales estimadas

*. La diferencia de medias es significativa al nivel .05.

b. Ajuste para la comparación múltiple de: Bonferroni.



Anexo 15. Promedio de Peso semanal durante la investigación.

PESO EN Gr. POR SEMANA Y POR TRATAMIENTO								
Tr.	PESO INICIAL	SEMANAS:						
		1	2	3	4	5	6	7
T1	37,80	144,6	308,3	644,2	1116,0	1722,94	2560,44	3165,35
T1	38,89	154,55	320,08	672,19	1206,47	1843,56	2713,39	3267,88
T1	38,47	146,09	315,77	655,89	1137,00	1738,84	2565,63	3224,38
T1	38,30	146,17	314,25	670,86	1176,67	1801,52	2537,80	3074,24
T1	38,12	145,88	344,64	652,95	1099,98	1663,45	2502,30	3085,56
T2	37,57	137,99	325,78	646,25	1164,88	1743,43	2564,49	3052,07
T2	38,45	150,19	343,93	662,10	1188,20	1777,90	2607,24	3282,79
T2	39,35	142,47	333,30	669,66	1187,09	1788,31	2589,55	3224,91
T2	38,05	149,31	327,89	662,78	1179,19	1789,30	2598,70	3255,92
T2	37,77	156,76	332,55	652,98	1202,41	1821,21	2699,12	3199,15
T3	37,20	151,70	312,79	644,91	1134,84	1726,10	2582,77	3242,05
T3	38,68	151,28	329,24	680,91	1169,91	1766,58	2602,98	3403,74
T3	38,07	153,15	328,19	699,38	1207,59	1866,94	2644,21	3183,74
T3	38,96	149,50	338,06	674,98	1174,82	1756,59	2586,93	3248,61
T3	37,95	146,75	330,05	663,07	1151,55	1732,06	2514,58	2964,94
T4	37,36	155,09	339,55	661,98	1204,77	1798,97	2651,87	3201,28
T4	36,90	151,16	336,70	672,50	1205,62	1814,09	2654,54	3273,88
T4	38,21	148,64	320,78	664,05	1166,55	1788,77	2637,36	3237,75
T4	38,29	150,29	343,95	711,84	1248,54	1890,85	2683,51	3310,52
T4	36,53	148,67	321,61	644,24	1164,25	1752,76	2510,51	3143,91



Anexo 16. Consumo de Alimento Acumulado por semana y por tratamiento.

CONSUMO DE ALIMENTO (Gr.) ACUMULADO POR SEMANA Y POR TRATAMIENTO							
TR	SEMANAS:						
	1	2	3	4	5	6	7
T1	117,30	313,70	740,40	1443,72	2422,08	3657,14	5087,83
T1	129,88	332,67	811,14	1609,64	2730,32	4113,47	5623,76
T1	126,40	336,20	771,30	1494,98	2502,62	3818,09	5291,15
T1	124,00	335,58	789,35	1571,71	2668,32	3984,80	5391,14
T1	127,95	342,00	743,30	1436,41	2471,26	3772,82	5143,94
T2	123,70	310,50	740,90	1445,53	2461,01	3690,27	5096,55
T2	131,20	355,00	813,05	1546,58	2598,37	3900,47	5368,53
T2	126,35	334,30	771,76	1524,93	2584,54	3879,65	5335,71
T2	126,65	327,45	776,85	1511,64	2560,96	3852,17	5326,50
T2	122,34	362,13	816,81	1597,28	2710,28	3985,22	5339,79
T3	130,57	333,99	811,83	1588,94	2676,30	3953,12	5368,56
T3	132,45	343,05	790,95	1526,11	2613,46	3955,88	5426,83
T3	133,67	355,44	838,68	1660,24	2783,62	4134,24	5567,35
T3	129,90	340,55	781,20	1498,04	2534,09	3833,36	5282,80
T3	132,20	365,83	803,99	1552,21	2579,49	3808,27	5148,09
T4	131,65	342,60	797,35	1555,74	2602,18	3901,38	5344,21
T4	131,20	355,52	816,47	1570,13	2621,74	3902,91	5362,09
T4	128,30	350,95	794,60	1523,55	2550,55	3829,09	5305,09
T4	131,90	358,70	835,30	1607,91	2698,86	4035,52	5504,58
T4	121,78	323,88	738,04	1446,71	2490,07	3741,19	5113,75



Anexo 17. Mortalidad Acumulada por Semana.

MORTALIDAD ACUMULADA /TRATAMIENTO							
TRATAMIENTO	SEMANAS:						
	1	2	3	4	5	6	7
T1	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1,00
T1	1,00	3,00	3,00	3,00	3,00	4,00	4,00
T1	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
T1	0,00	1,00	2,00	2,00	3,00	4,00	6,00
T1	0,00	0,00	0,00	0,00	1,00	1,00	1,00
T2	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
T2	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
T2	0,00	0,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
T2	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
T2	1,00	1,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00
T3	1,00	1,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00
T3	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
T3	1,00	2,00	3,00	3,00	3,00	3,00	4,00
T3	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
T3	0,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
T4	0,00	0,00	0,00	1,00	1,00	1,00	1,00
T4	0,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
T4	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1,00	1,00
T4	0,00	0,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
T4	1,00	1,00	1,00	1,00	2,00	2,00	2,00
Mu acum/sem	5,00	11,00	17,00	18,00	21,00	24,00	28,00