

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA
Y ZOOTECNIA

**RESPUESTA A LA ADICIÓN DE PROBIÓTICOS SOBRE LOS
PARÁMETROS PRODUCTIVOS Y LA PIGMENTACIÓN DE LA PIEL
DEL POLLO DE ENGORDA *IN VIVO***

TESIS
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

PRESENTA

GUSTAVO MARTÍNEZ MARTÍNEZ

Asesores:

Dr. Benjamín Fuente Martínez
MC. Xóchitl Hernández Velasco

México, D. F.

2013



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

DEDICATORIAS

A mis padres;

Que por todo el apoyo, consejos y regaños me han traído hasta este importante punto en mi vida.

A mi hermana, que ha compartido momentos gratos en mi vida.

AGRADECIMIENTOS

Agradecimientos al Proyecto PAPIIT IN203910 por el apoyo otorgado

MVZ José Luis Vicente Salvador

MVZ Francisco Gómez

MVZ Krimilda Valle Valenzuela

Por las donaciones de los probióticos para este experimento

Al MVZ Manuel Quiroz Pesina, Vepinsa SA de CV

Por la donación del pigmento utilizado en el experimento

A mis asesores

Dr. Benjamín Fuente Martínez

Mc. Xóchitl Hernández Velasco

Por la oportunidad que me ofrecieron en esta experiencia y por el apoyo que

como asesores hicieron valer

A mis compañeros

Nancy Frade Negrete

Arturo Gonzales L

Mary Jiménez Flores

Itzel Bautista Borjas

Por el apoyo en la realización del experimento

CONTENIDO

RESUMEN.....	1
INTRODUCCIÓN.....	3
Indicadores Productivos.....	4
Pigmentación.....	5
Clasificación de pigmentos.....	7
<i>Tagetes erecta</i>	8
Procesamiento.....	9
Metabolismo de los pigmentos.....	10
Factores que afectan la pigmentación del pollo de engorda.....	11
Métodos de evaluación de pigmentación en piel.....	13
Salud intestinal.....	13
Probióticos.....	15
Criterios generales para un probiótico.....	16
Factores a considerar para la eficacia de los probióticos.....	17
Mecanismos de acción.....	17
Características de las especies más comunes.....	18
Beneficios de los probióticos en la industria animal.....	19
JUSTIFICACION.....	21
HIPOTESIS.....	22
OBJETIVOS.....	23
MATERIAL Y MÉTODOS.....	24
Análisis estadístico.....	27
RESULTADOS.....	28
DISCUSION.....	29
CONCLUSIONES:.....	33
BIBLIOGRAFÍA.....	34
CUADROS Y FIGURAS.....	43

Cuadro 1. Composición de las dietas experimentales empleadas (kg).....	43
Cuadro 2. Análisis Calculado de las dietas experimentales.....	44
Cuadro 3. Parámetros productivos a los 49 días de edad de pollos alimentados con probióticos.....	45
Cuadro 4. Consumo de pigmento acumulado a los 49 días de edad en pollos alimentados con probióticos.....	46
Cuadro 5. Xantofilas en plasma a los 49 días de edad en pollos de engorda alimentados con probióticos.....	46
Cuadro 6. Amarillamiento de la piel a los 49 días de edad en pollos alimentados con probióticos.....	46
Figura 1. Isopreno.....	47
Figura 2. Oxicarotenoides (Luteína).....	47
Figura 3. Xantofilas plasmáticas de los 21 42 días de edad en pollos de engorda machos y hembras alimentados con 85 ppm de <i>Tagetes erecta</i> y probióticos.....	47
Figura 4. Amarillamiento cutáneo (b*) in vivo de los 21 a 49 días de edad en pollos de engorda alimentados con probióticos.....	48

RESUMEN

Martínez Martínez Gustavo. Respuesta a la adición de probióticos sobre los parámetros productivos y la pigmentación de la piel del pollo de engorda *in vivo*. (Bajo la dirección de: Dr. Benjamín Fuente Martínez y MC. Xóchitl Hernández Velasco).

Con el objeto de determinar la respuesta en los parámetros productivos, absorción y depósito del pigmento amarillo en la piel del pollo de engorda hembras y machos al adicionar probióticos en su dieta, se utilizaron 400 pollos de la estirpe Ross 308 de un día de edad de ambos sexos. Las aves fueron distribuidas en un diseño completamente al azar con un arreglo factorial de 4 x 2. El experimento constó de cuatro tratamientos: 1. testigo negativo (sin probióticos); 2. Dieta 1 + *L. acidophilus*; 3. Dieta 1 + *B. subtilis*; 4. Dieta 1 + *L. farciminis*. Siendo los tratamientos un factor y el otro el sexo macho o hembra semanalmente se evaluó la ganancia de peso, consumo de alimento y el índice de conversión. A partir del día 21 de edad de las aves se midió el amarillamiento cutáneo (b^*). Además se cuantificó la concentración de xantofilas amarillas en plasma. Los resultados obtenidos en 49 días de edad para parámetros productivos y pigmentación de la piel mostraron un comportamiento similar entre los tratamientos solo, con factor sexo siendo mejor en machos; mientras que la concentración de xantofilas en plasma fue menor ($P < 0.05$) en las aves del grupo testigo (17.2 $\mu\text{g/ml}$) con respecto a los tratamientos 2 al 4 que recibieron los probióticos (19.4, 18.7, 20.1 $\mu\text{g/ml}$ respectivamente). La pigmentación amarilla de la piel del pollo *in vivo* a 49 días

de edad mostró ser mayor en las hembras (20b*) con respecto a los machos (18b*) ($P < 0.05$).

INTRODUCCIÓN

Debido a la necesidad de mejorar los parámetros productivos, calidad nutricional y comercial de la avicultura mexicana se adhieren a las dietas aditivos, entre ellos están los pigmentos, promotores de crecimiento, saborizantes, aglutinantes, etc.

La pigmentación amarilla de la piel del pollo de engorda es un factor muy importante para su comercialización y venta en varias partes del mundo incluyendo México. La relación de la salud del pollo y de la frescura de la canal con una mayor intensidad en el color amarillo de la piel constituye una ventaja comercial¹.

Debido a lo anterior, los productores adicionan pigmentantes a la dieta del pollo para mejorar su presentación física^{2,3}. Sin embargo para su eficiente deposición, se necesita que el pollo de engorda tenga un óptimo sistema gastrointestinal, para lograr una absorción del pigmento y este tenga mejor distribución a lo largo de la piel y demás órganos blancos.

Esto nos lleva a un problema que es mantener la salud intestinal de los pollos. Existen aditivos promotores del crecimiento dirigidos a mantener esa función biológica y contrarrestar a agentes patógenos que la afectan. Actualmente, debido a las nuevas tendencias mundiales, de disminuir el uso de los antibióticos como promotores de crecimiento iniciadas en la Unión Europea a partir del año 2006⁴, se han propuesto a los probióticos como una alternativa al uso de los antibióticos para promover la salud intestinal y ganancia de peso en los animales.

A la fecha existen pocos reportes de la acción de los probióticos afectando el color de piel de pollo; sin embargo, Zhu *et al.* (2009)⁵, reportan que la adición con *Lactobacillus salivarius* incrementa el color de la piel en la escala del colorímetro Roche y los valores del amarillamiento en muslo (b*).

Cortés y Ávila en el 2000 reportaron una tendencia a mejorar el amarillamiento en la piel al adicionar *Bacillus toyoi*⁶.

Xu *et al.* (2006)⁷, mencionan que al adicionar *Bacillus subtilis* en la dieta de gallinas de postura aumentó ligeramente el color de la yema de huevo (no estadísticamente significativo).

Mikulski *et al.* (2012)⁸ mencionan que el probiótico *Bacillus subtilis* mejora la calidad de huevo, entre ellos el color de la yema además de incrementar la producción de las gallinas.

Pelicano *et al.* (2003)⁹ encontraron que mediante el uso de probióticos mejoraron la calidad de la carne en relación al color (luminosidad), pH y aspecto general.

Con estos antecedentes, se planteó el presente trabajo para ampliar los conocimientos sobre los probióticos y su relación con la pigmentación de la piel del pollo.

Indicadores Productivos

La avicultura mexicana ocupa el sexto lugar en producción mundial de pollo de engorda y dentro de la producción pecuaria nacional representa más del 60%, donde el pollo de engorda abarca un 34.6%. De acuerdo con datos estimados, en el 2012 se produjeron 2 957 922 de toneladas de carne de pollo, siendo los

principales estados productores: Veracruz y Querétaro con un 11% cada uno; la Laguna y Aguascalientes con 10 % cada uno; Puebla con 7%, Jalisco y Yucatán con 6% cada uno; Guanajuato, Estado de México, Chiapas y Sinaloa con un 5% cada uno; Nuevo León, Hidalgo y San Luis Potosí con 3% cada uno; y el estado de Morelos con un 2%. Los empleos que genera la avicultura mexicana con datos reportados hasta el 2013 son más de 200 mil empleos directos y 960 mil indirectos. El costo del alimento representa en promedio 68.3% del valor total de costos en producción¹⁰.

Pigmentación

La explotación de las aves se realiza en confinamiento, lo que motiva que estas no tengan acceso libre a vegetales ricos en xantofilas, por lo cual las dietas formuladas para aves de postura o pollos de engorda deben incluir ingredientes proveedores de xantofilas, como maíz amarillo, gluten de maíz, harina de alfalfa, chiles, pigmentos sintéticos y concentrados de xantofilas de flor de cempasúchil (*Tagetes erecta*)³.

El desarrollo en México en la década de 1960 de la tecnología de la pigmentación del pollo de engorda y de la yema de huevo a partir de la extracción de carotenoides de la flor de cempasúchil (*Tagetes erecta*) fue realizada por un grupo de investigadores mexicanos que trabajaban para la fundación Rockefeller México comenzaron a buscar algunas alternativas para pigmentar los productos avícolas, entre las que se encontraba el cempasúchil. Fue así que se desarrolló la

tecnología que trascendió las fronteras mexicanas e hizo su aparición en diferentes eventos académicos de Estados Unidos. La tecnología de la pigmentación también llamó la atención de los empresarios, mismos que años más tarde desarrollaron esta tecnología a nivel industrial¹¹.

En consecuencia, el añadir carotenoides al alimento se ha convertido en una práctica común en la industria de aves de corral para asegurar la cantidad necesaria para la pigmentación¹².

Las principales fuentes pigmentantes empleadas en México para el pollo de engorda son los carotenoides de la flor de cempasúchil y los chiles del género *Capsicum*; así como los pigmentos sintéticos derivados de apoéster y cantaxantina^{3,13-15}.

Por lo tanto, el color de la piel de las aves se obtiene por pigmentos carotenoides que se añaden a las dietas de los pollos de engorde y éste deposita en la piel y grasa².

Actualmente en muchas regiones y países del mundo se prefiere un pollo bien pigmentado, un ejemplo de estos serían Estados Unidos¹⁵, China^{5,16}, Italia¹⁷, Brasil¹⁸ y México¹⁹.

El nivel requerido de xantofilas en la dieta para proveer una adecuada pigmentación puede variar ampliamente, dependiendo de la intensidad deseada por el mercado particular.

En general en México, las preferencias en cuanto a la pigmentación amarilla en la piel del pollo, se clasifica de acuerdo a las siguientes regiones del país²⁰:

- Zona sureste: Mérida, Tabasco, Campeche. No se pigmenta.
- Noroeste: Sinaloa, Sonora. Pigmentaciones bajas que van desde los 36-38 puntos de amarillamiento en pollo procesado.
- Norte: Chihuahua, Coahuila, Nuevo León, Tamaulipas. De bajas a nulas pigmentaciones, que van de 0 a 36 puntos de amarillamiento (b*).
- Occidente y Bajío: Jalisco, Colima, Nayarit, Aguascalientes, Zacatecas, San Luis Potosí, Guanajuato. Pigmentaciones medias que van de 42 a 44 puntos de amarillamiento (b*).
- Centro: Guanajuato, Querétaro, Estado de México, México D.F., Puebla, Morelos. Pigmentaciones medias a altas, de 44 a 48 unidades de amarillamiento (b*).

Clasificación de pigmentos

En la naturaleza existen varios grupos de moléculas pigmentantes:

- Derivados de tetrapirroles, que consisten en clorofilas y pigmentos biliares y hemáticos.
- Carotenoides.
- Derivados benzopiránicos; antocianinas y flavinoides.

Los carotenoides son un grupo de más de 500 pigmentos repartidas por todas las plantas y el reino animal¹³.

Los carotenoides son lípidos de naturaleza terpenoide, esto significa, que están formados por cadenas repetidas de la molécula de 5 carbonos denominadas isopreno (Figura 1)¹³.

Estos a su vez se clasifican en; carotenos y xantofilas. Los carotenos están formados exclusivamente por átomos de carbono e hidrógeno, mientras que las xantofilas se consideran productos de la oxidación de los carotenos, ya que contienen átomos de oxígeno, por lo tanto también se consideran como oxicarotenoides (Figura 2).

Los carotenoides, en particular los oxicarotenoides (también referidos como xantofilas) luteína y zeaxantina, son los compuestos de interés en el extracto de flor de cempasúchil en la pigmentación de las aves de corral²

Tagetes erecta

La flor de cempasúchil pertenece a la clase *Magnoliopsidae*, la subclase *Dicotyledoneae*, al orden *Asterales*, a la familia *Asteraceae*, al género *Tagetes*. La cual es nativa del continente americano²¹.

En México se ubica el área de mayor diversidad de especies del género *Tagetes* y los estados en donde se puede encontrar son; Chiapas, Morelos, Estado de México, Puebla, Tlaxcala, Veracruz, Tabasco, Oaxaca, Durango, Jalisco, Michoacán, Guerrero y Yucatán²².

Como se mencionó antes una de las fuentes más ampliamente utilizadas de pigmentos amarillos es el extracto de la flor de cempasúchil (*Tagetes erecta*), que contienen más de 2 000 ppm de carotenoides²³.

Los carotenoides que se encuentran en la flor de cempasúchil son las xantofilas; luteína y zeaxantina, siendo la luteína el más abundante, ya que se encuentra entre un 80-95% del contenido total².

La proporción luteína frente a zeaxantina en *Tagetes erecta* naturales es de 90:10, pero químicamente algunos productos tratados *Tagetes* podría tener una proporción de hasta 40:60 y además podría proporcionar una tonalidad de color más naranja. Estos productos con mayores proporciones de zeaxantina, se obtienen por reacción de su oleorresina a una temperatura y presión controladas con soluciones acuosas fuertemente alcalinas para isomerizar la luteína y zeaxantina².

La mayoría de los carotenoides naturales que son relevantes para pigmentación de las aves de corral se producen en forma libre, pero la luteína en los pétalos de *Tagetes* se produce principalmente como diésteres de ácido palmítico y del ácido mirístico¹².

Procesamiento

Para su utilización en la industria avícola, el proceso de obtención de los carotenoides de *Tagetes erecta* incluye varios pasos. Primero, las flores son prensadas, deshidratadas y molidas. Posteriormente se realiza una extracción con disolventes, la que genera una oleorresina compuesta en su mayoría de carotenoides esterificados con un contenido de 70 a 120 mg g⁻¹ de xantofilas²⁵. Esta oleorresina es saponificada a través de una hidrólisis alcalina para liberar a las xantofilas, de las cuales de 80 a 90% es la luteína, 5% zeaxantina y de 5 a 15% son otros carotenoides, como violaxantina y criptoxantina²⁶. El pigmento de la oleorresina puede ser purificado con aceite vegetal, salicato de calcio y gelatina, entre otros aditivos, lo que da como resultado un producto con

condiciones adecuadas para ser utilizado como aditivos pigmentante²⁵. La saponificación generalmente se realiza durante la fabricación comercial para aumentar el valor pigmentación del extracto.

Metabolismo de los pigmentos

Para la absorción y distribución ya sea de forma libre o esterificada, la luteína se absorbe en el torrente sanguíneo. Una vez consumida, la luteína libre (no esterificado) se transporta y almacenan en el hígado o en los sitios tegumentarios como luteína diesterificada²⁶.

Los carotenoides en la alimentación son absorbidos en su forma libre, por lo que los hydroxycarotenoides esterificados tienen que ser saponificados antes de que sean absorbidos. Los carotenoides alimenticios se encuentran tanto en forma trans (60 a 90%) y cis (10 a 30%). Hencken (1992)¹² los evaluó *in vitro*, donde encontró que el isómero trans es un pigmento más eficaz que el isómero cis, debido a la tonalidad más roja y una mayor estabilidad.

Los carotenoides en la dieta son absorbidos en diferentes secciones del intestino, mientras que la zeaxantina se absorbe principalmente en el íleon, la absorción de la luteína tiene lugar en el duodeno y el yeyuno²³.

De manera general una vez que se han liberado de la matriz del alimento, los carotenoides son hidrolizados en el intestino delgado y se absorben (en forma libre) vía difusión pasiva a través de las membranas del intestino, que tiene la característica de ser insaturable y tiene un gradiente de concentración positivo²⁷.

Posterior a la absorción, los carotenoides son depositados en el hígado y transportados por la sangre, rápidamente depositados en los tejidos de pollos de engorda (adiposo subcutáneo la capa de piel del pecho y muslo), principalmente como la forma esterificada²⁸.

Las aves sanas absorben los pigmentos de su dieta, que son transportados por la sangre al tejido graso subcutáneo y piel, donde se almacenan. Este proceso se ve afectado en las aves que sufren de enfermedades, especialmente las que afectan el tracto digestivo, como las infestaciones parasitarias²⁹.

Factores que afectan la pigmentación del pollo de engorda

Cuca *et al.* (2008)³ enlistaron los principales factores que afectan la pigmentación de la piel de pollo de engorda:

1. La cantidad total de xantofilas administradas durante las 4 últimas semanas, en el caso de pollo de engorda, ya que estas se absorben, circulan en sangre y se depositan en los tejidos, de donde son fácilmente removidos, metabolizadas y excretadas en un periodo de 14 a 18 días.
2. La digestibilidad de las xantofilas, depende de su estructura química y su solubilidad. La saponificación de la luteína esterificada, aunque la hace más inestable, aumenta los niveles sanguíneos del 41 al 60% en pollo de engorda. Por otra parte durante el proceso de deshidratación y almacenaje de la flor de cempasúchil, se puede producir una isomerización parcial de la forma holo- trans a la forma cis. Esta última tiene una eficacia

pigmentante que equivale del 60 al 70% de la forma trans. Un análisis de rutina no indica el grado de isomerización.

3. La gama de carotenoides permite alcanzar diversos matices de pigmentación. La luteína es un pigmento amarillo limón; el apoéster (pigmento amarillo sintético), amarillo oro; la zeaxantina amarillo anaranjado; y la cantaxantina, rojo. Al buscar un nivel de pigmentación debe considerarse los conceptos de saturación y tono o matiz.
4. La afinidad del tejido a cada pigmento. Hay pigmentos que se depositan en la yema, pero no en la piel ni grasa subcutánea. Otros tienen mayor afinidad por grasa abdominal que por el pico y los tarsos.
5. El contenido energético de la dieta, el tipo de ácidos grasos y la calidad de ellos. Las grasas oxidadas o con alto grado de peróxidos, destruyen los pigmentos.
6. La calidad de ingredientes. Un alto nivel de micotoxinas puede causar fallas en la pigmentación.
7. El manejo, procesamiento y almacenaje de los alimentos, el peletizado y extrudizado destruyen grandes cantidades de microingredientes, incluso pigmentos.
8. El estado de salud de las parvadas, aves enfermas, particularmente con problemas crónicos respiratorios o coccidiosis, no utilizarán adecuadamente los pigmentos. La absorción y el transporte se afectan.
9. El proceso de sacrificio y escaldado pueden disminuir de manera importante la coloración de la piel.

Métodos de evaluación de pigmentación en piel

En la práctica se utilizan los siguientes métodos directos:

- Prueba de Rank, la cual consiste en la comparación directa entre sí de las canales de pollo ordenándolas de mayor a menor pigmentación. Teniendo la desventaja de que solo sirve para la muestra valorada.
- Abanicos y escalas colorimétricas: se trata de apoyos visuales, los cuales se presentan como abanicos o reglas con ciertos estándares o patrones de color. Son usados principalmente para la evaluación de yemas de huevo y en pollos alimentados con pigmentos sintéticos.
- Fotocolorimetría de reflectancia: es la medición de la reflexión de un haz de luz descomponiéndose o en 3 dimensiones, luminosidad (L^*), enrojecimiento (a^*), amarillamiento (b^*). Permitiendo esto dar un valor numérico a cada variante en forma independiente de la apreciación humana. El equipo utilizado es el fotocolorímetro CR-300 o CR-400 de Minolta.

No es exagerado decir que la pigmentación del pollo es un reflejo de la salud de la parvada, esto debido a la deposición que se tiene respecto a la mayor cantidad de pigmento absorbido a nivel intestinal.

Salud intestinal

El término “Salud Intestinal” se define como el funcionamiento óptimo del tracto intestinal, el cual maximiza el desempeño productivo de las aves. Porque el tracto

intestinal es uno de los factores principales del desempeño y rentabilidad de las aves, la integridad intestinal es fundamental para tener una producción rentable³⁰.

La pérdida de la integridad y como consecuencia la salud intestinal puede ejercer un impacto negativo en muchas áreas:

- Salud y bienestar de la parvada.
- Ganancia de peso
- Conversión Alimenticia
- Rendimiento en la canal
- Pigmentación
- Seguridad alimenticia
- Impacto en planta de procesamiento
- Rentabilidad

El daño intestinal aumenta el riesgo de infecciones y enfermedades que pueden afectar a la pigmentación^{31,32}.

La Integridad intestinal óptima, desde el nacimiento hasta el final del ciclo productivo, es esencial para obtener el máximo potencial genético de crecimiento y utilización del alimento de las aves. Es por esto que es necesario estimular un desarrollo temprano, íntegro y completo del aparato gastrointestinal.

La buena integridad intestinal es esencial para³²:

- 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 el exceso de humedad en las excretas.

Los desórdenes intestinales usualmente causan un daño de la mucosa intestinal y el organismo reacciona a través de una renovación acelerada de los tejidos dañados. Este proceso es complejo y requiere de un gasto de energía adicional - en otras palabras - las enfermedades intestinales se producen a expensas del rendimiento de las aves.

Probióticos

Una alternativa ampliamente utilizada para promover la salud intestinal y por consecuencia la absorción de nutrientes es el uso de algunos aditivos (ácidos orgánicos, probióticos, prebióticos, enzimas, etc.), particularmente los probióticos que afectan favorablemente el rendimiento y bienestar animal, especialmente a través de la modulación de la microbiota intestinal que favorece la salud del animal. Aunque existen innumerables definiciones de probióticos, algunas de las más utilizadas son las siguientes:

- Microorganismos vivos que cuando son administrados en adecuadas cantidades, confieren beneficios a la salud en el huésped³³.

- Cultivos de microorganismos vivos (en su gran mayoría del género *Lactobacillus spp.*) que colonizan el tubo digestivo de los animales que los consumen, cuyo objetivo es mantener el equilibrio normal entre las poblaciones de bacterias benéficas y peligrosas del tubo digestivo³.
- Suplementos alimentarios que contienen bacterias vivas y que promueven efectos benéficos al hospedero, por favorecer el equilibrio de la microbiota intestinal³⁴.

Criterios generales para un probiótico

Las características que deben reunir los probióticos para mostrar eficacia son³⁵.

- Tener actividad antimicrobial
- Sobrevivencia en el tracto gastrointestinal (resistencia a los ácidos gástricos y bilis)
- No deben causar toxicidad, ni patogenicidad.
- Adhesión al epitelio o mucosa.
- Competición con la microbiota residente.
- Antagonismo hacia bacterias patógenas.
- Modulación de la respuesta inmune.
- Viabilidad en poblaciones altas.

Factores a considerar para la eficacia de los probióticos

Timmerman *et al.* (2004)³⁶ mencionaron que la actividad de los probióticos puede estar relacionada al género, especies y cepas. Un enfoque a la aplicación de probióticos podría ser el uso de mezclas pertenecientes a diferentes géneros y especies.

Mientras que Sazawal *et al.* (2006)³⁷ y Mountzouris *et al.* (2010)³⁸ mencionan que la dosis, tiempo y duración de la administración de los probióticos podrían ser un factor que afecte la eficacia de estos.

Hay varios factores que pueden interferir con la respuesta de los pollos en comparación con los probióticos, por ejemplo, la edad de proceso por lotes, el grado de desafío a la salud, cantidad de microorganismo, agente anticoccidial, crianza en jaulas o en el suelo, entre otros³⁹.

Mecanismos de acción

Para explicar los efectos protectores de los probióticos en los organismos, se han resumido cuatro mecanismos; antagonismo a través de la producción de sustancias antimicrobianas; competición contra organismos patógenos por la adhesión a sitios o utilización de nutrientes; inmunomodulación del hospedero e inhibición de la producción de toxinas bacterianas^{35,40,41,42}. Pero también se atribuyen homeostasis en la microbiota intestinal, estabilización de la barrera gastrointestinal y expresión de bacterocinas³⁶.

Características de las especies más comunes

Entre los microorganismos más utilizados como probióticos se encuentran *Aspergillus* spp., *Bacteroides* spp., *Bifidobacterium* spp., *Streptococcus* spp., *Lactobacillus* spp., y levaduras como *Sacharomyces cerevisiae*.^{3,35,40.}

Lactobacillus. Este género es una amplia y heterogénea unidad taxonómica, comprendiendo más de 100 diferentes especies, pertenecientes al grupo de las bacterias productoras de ácido láctico. Muchas especies son constituyentes de la microbiota normal de humanos y animales. El *Lactobacillus acidophilus* absorbe la lactosa y la metaboliza formando ácido láctico. Los lactobacilos crecen bien en medios ligeramente ácidos, con pH inicial de 6.4 a 4.5. La mayoría de las cepas de *Lactobacillus* son principalmente aerotolerantes; su crecimiento óptimo se alcanza bajo condiciones microaerofílicas o anaeróbicas. La mayor parte de los lactobacilos son mesófilos (30 - 40°C), con un límite superior de 40°C⁴³.

Bifidobacterium. Su presencia en altas poblaciones está asociada con la buena salud del hospedero³⁵.

Las bifidobacterias son bacterias anaeróbicas Gram positivas, que habitan principalmente en el intestino delgado, habitantes normales del TGI tanto del hombre, como de los animales. Son bacilos o cocos no móviles, anaerobios estrictos, con formas que dependen de la especie a la que pertenezcan. *Bifidobacterium bifidum* reside en el intestino grueso donde se procesan los desechos para ser evacuados.

Representan uno de los mayores grupos de bacterias intestinales y se utilizan principalmente como flora probiótica en productos lácteos⁴⁴.

Bacillus subtilis. Este género es Gram positivo, aeróbico, forman endosporas, son bacterias que están bien definidas y han demostrado recientemente gran promesa como microorganismos de alimentación directa debido a su inherente capacidad para formar esporas. Se pueden encontrar en la flora intestinal normal de las aves; Son capaces de germinar y esporular en el tracto gastrointestinal de los pollos^{45,46}.

Saccharomyces cerevisiae. Las levaduras son también parte del sistema microbiano residual de la microbiota intestinal. *Saccharomyces cerevisiae* está extendida en la naturaleza y se pueden encontrar en las plantas, frutas y suelo; además se incluye en los alimentos y bebidas para su papel clave en los procesos de fermentación y en los alimentos para la salud³⁵.

Beneficios de los probióticos en la industria animal

Las aves de corral producidas comercialmente carecen del contacto natural entre los pollos y las gallinas madres, lo que resulta en un retraso en el desarrollo de la microbiota del intestino. En consecuencia, los pollitos de un día que no establecen microflora protectora inmediatamente después de la eclosión son susceptibles a la colonización de patógenos. Los probióticos pueden ser una posible estrategia para el control de patógenos y así mantener una microbiota intestinal saludable.

La aplicación de los probióticos en las aves de corral se asocia estrechamente con el concepto de exclusión competitiva (EC). Desde las primeras aplicaciones sobre los nuevos pollitos nacidos, varios experimentos con y sin definir cultivos probióticos se han desarrollado con éxito y aplicado para controlar y reducir la colonización por *Salmonella*⁴⁷.

Además, se ha demostrado experimentalmente que el tratamiento EC también protege polluelos contra *C. jejuni*, *Listeria monocytogenes*, *E. coli* patógenas, *Yersinia enterocolitica* y *C. perfringens*^{35,48}.

A pesar de las dificultades de la aplicación de los resultados obtenidos por métodos *in vitro* a la situación *in vivo*, en la industria avícola, la suplementación con probióticos, especialmente *Lactobacillus*, ha demostrado ser eficaz en el aumento de peso, la mejora de la conversión alimenticia, y la disminución de la mortalidad en aves de producción⁴⁹

El objetivo de los productos microbianos son: mejorar el rendimiento productivo, los beneficios para el consumidor a través de una mejor calidad de los productos.

JUSTIFICACION

Debido al corto tiempo de producción en el tiempo de engorda y las innumerables enfermedades en el tracto gastrointestinal que afectan la integridad intestinal y por consecuencia la absorción de nutrientes, entre ellos la capacidad para absorber los pigmentos en la dieta, es importante tener en cuenta los métodos posibles a ocupar en producción para mantener un periodo de engorda óptimo, teniendo en cuenta los parámetros de producción, la salud de la parvada e higiene de las instalaciones, entre otras.

Actualmente la dirección que se está tomando para el uso restrictivo de antimicrobianos, obliga a buscar alternativas para sustituirlos que a su vez favorezcan una mejor salud intestinal en las aves y un alimento de mayor calidad para el consumo humano.

HIPOTESIS

La administración de probióticos en la dieta mejora los parámetros productivos y la pigmentación de la piel en pollo de engorda

OBJETIVOS

General

Determinar la respuesta de pollos de engorda hembras y machos en los parámetros productivos y depósito del pigmento amarillo en la piel al adicionar probióticos en su dieta.

Objetivos particulares

1. Evaluar la respuesta productiva (ganancia de peso, consumo de alimento e índice de conversión) del pollo de engorda hembra y macho a la adición de probióticos.
2. Analizar el efecto de los probióticos en la absorción intestinal de pigmento en pollo de engorda macho y hembra mediante la determinación de xantofilas amarillas en plasma.
3. Medir la pigmentación amarilla de la piel del pollo de engorda hembras y machos *in vivo* al emplear probióticos en su dieta.

MATERIAL Y MÉTODOS

El experimento se realizó en el Centro de Enseñanza, Investigación y Extensión en Producción Avícola ubicado en la calle de Salvador Díaz Mirón 89., Colonia Zapotitlán, en México, D.F. Las pruebas de laboratorio se realizaron en el Departamento de Medicina y Zootecnia de Aves, localizado en Av. Universidad 3000, Col. UNAM, CU., Del. Coyoacán 04510, México DF.; ambos pertenecientes a la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM.

Se utilizaron 400 pollos de la estirpe Ross 308 de un día de edad, 200 machos y 200 hembras, provenientes de una incubadora comercial. Las aves fueron alojadas en una caseta experimental de ambiente natural con piso de cemento y cama de viruta de madera con un espesor de 10 cm. Durante los primeros 21 días de edad a las aves se les proporcionó calor con criadoras infrarrojas de gas. Las aves fueron distribuidas conforme a un diseño completamente al azar con un arreglo factorial de 4 x 2, donde el primer factor fueron los diferentes tratamientos (testigo, *L. acidophilus*, *B.subtilis* y *L. farciminis*) y el segundo factor fue el sexo (hembras y machos) del ave. Cada tratamiento constó de cuatro réplicas con 25 aves cada una. Las aves recibieron un alimento con base en sorgo + pasta de soya + harina de carne y hueso cubriendo las necesidades nutricionales recomendados para la estirpe⁵⁰ (Cuadros 1 y 2). Se formularon dietas de iniciador (0 a 10 días de edad), crecimiento (11 a 21 días de edad) y finalizador (22 a 49 días de edad) con el paquete computacional ALLIX². El agua y alimento se

proporcionaron *ad libitum* y a partir del día 21 de edad, se adicionaron a las dietas 85 ppm de pigmento amarillo natural de *Tagetes erecta*.

El experimento constó de cuatro tratamientos que recibieron uno de tres productos probióticos comerciales:

1.- Testigo negativo (sin probióticos)

2.- Como 1 + *Lactobacillus acidophilus*, *Pediococcus acidilacticii* en agua de bebida⁺

3.- Como 1 + *Bacillus subtilis* (1.5 kg/ ton)⁺⁺

4.- Como 1 + *Lactobacillus farciminis* (0.6 kg/ton)⁺⁺⁺

⁺FLORAMAX B-11. Cepas de bacterias *Lactobacillus acidophilus*, *Pediococcus acidilacticii* leche descremada, Fructo-oligosacáridos y cepas inactivadas de *Saccharomyces cerevisiae*. Se administra en el agua de bebida por un periodo de 6 a 12 horas los días 1, 12, 25 y 35 de edad. 140g hasta para 20000 aves (dosis).

⁺⁺ CALSPORIN®. *Bacillus subtilis* C3102, concentración 3×10^{10} UFC.

⁺⁺⁺ ALQUEERFEED. *Lactobacillus farciminis* (2.5×10^{12} UFC), endo-1,3 (4) beta-glucanasas (33000 U), endo 1, 4 beta-xilanasas (48000 U).

Semanalmente se evaluó por tratamiento en todos los pollos la ganancia de peso (g), consumo de alimento (g) y se calculó el índice de conversión (consumo de alimento/ ganancia de peso) (kg/kg). A partir del día 21 de edad de las aves, se tomaron diez pollos por replica mediante un muestreo aleatorio simple sin reemplazo para evaluar semanalmente el pigmento en la piel en la región aptérica

lateral derecha denominada “vena de la grasa” con un colorímetro de marca Minolta CR400⁵¹. Además, semanalmente a dos aves por réplica, se les extrajeron 2 ml de sangre por vía intravenosa a través de la vena yugular para la cuantificación de xantofilas amarillas en plasma; la sangre fue conservada en refrigeración en tubos con anticoagulante EDTA al 10% para posteriormente ser procesados mediante la técnica de Allen⁵².

Técnica de Allen:

- El plasma (.5ml) + acetona (4.5ml) fue centrifugado a 1 500 rpm por 10 minutos.
- Las densidades ópticas fueron determinadas a 478 nm en un espectrofotómetro y los carotenoides medidos como mg/ml usando una curva estándar de luteína.

Análisis estadístico

A los resultados de las variables estudiadas se les realizó un análisis de varianza (ANDEVA), conforme a un diseño completamente al azar con un arreglo factorial 4 X 2 mediante el modelo:

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + \varepsilon_{ijk} \quad \text{donde: } i = 1, 2, 3 \text{ y } 4; j = 1, 2; k = 1, 2, 3 \text{ y } 4$$

μ = media general

α_i = efecto del i-ésimo tratamiento (sin probiótico, *L. acidophilus*, *B. subtilis*, *L. farciminis*)

β_j = efecto del j-ésimo nivel (sexo)

$(\alpha\beta)_{ij}$ = interacción del i-ésimo tratamiento y el j-ésimo nivel

ε_{ijk} = error experimental

La diferencia entre las medias se compararon con la prueba múltiple de Tukey con una significancia de $P < 0.05$.

RESULTADOS

Los resultados obtenidos a los 49 días de edad sobre los parámetros productivos se muestran en el Cuadro 3, donde no hubo efecto negativo o positivo ($P > 0.05$) en ninguno de los probióticos empleados en estas variables. Se observó que la mayor ganancia de peso, consumo y mejor conversión alimenticia la presentaron los machos ($P < 0.05$). Los resultados para consumo de pigmento se pueden observar en el Cuadro 4, donde no se encontró diferencia ($P > 0.05$) entre ninguno de los tratamientos empleados, ni al sexo. La concentración de xantofilas en plasma mostrada en el Cuadro 5 fue menor para el control negativo y teniendo la mayor concentración de xantofilas en plasma el tratamiento 4 el cual contenía *Lactobacillus farcimis*, de manera intermedia lo tuvieron el tratamiento 2 y 3. En la Figura 3 se muestran los valores de xantofilas en plasma a través del experimento.

Para el amarillamiento en la piel (Cuadro 6), se encontró que la pigmentación en los pollos fue similar (Figura 4) entre tratamientos; sin embargo las hembras pigmentaron más que los machos ($P < 0.05$).

DISCUSION

Los efectos de los probióticos en los parámetros productivos concuerdan con Dos Santos *et al.* (2004)⁵³ y De Faria *et al.* (2009)³⁹ donde no encontraron diferencias en la ganancia de peso o la conversión alimenticia entre aves tratadas con probióticos y aves no tratadas; ambos experimentos mezclaron probióticos en diferentes tratamientos (*Enterococcus*, bacterias lácticas, bacterias anaerobias, *B. subtilis*, *Streptococcus faecium*, *Lactobacillus acidophilus* e *Saccharomyces cerevisiae*).

Pero el experimento difiere de Aguavil (2012)⁵⁴ donde al ocupar probiótico elaborado con *L. acidophilus* y *B. subtilis* tuvo una diferencia significativa entre su tratamiento 4 (1.5ml probiótico comercial/1L de agua) respecto a su grupo testigo (sin probiótico) donde hubo diferencia de 123 g. Y también difiere de Contreras-Castillo *et al.* (2008)⁵⁵ donde el desempeño productivo (conversión alimenticia, consumo de alimento y ganancia de peso) fue similar en aquellos pollos alimentados con probióticos y su grupo control en todas las fases de crecimiento.

Los productos comerciales ocupados en el experimento tenían diferentes géneros de probióticos, el tratamiento 2 maneja una mezcla de 3 géneros (*L. acidophilus*, *Pediococcus acidolactici* y *Sacharomyces cerevisiae*) y los tratamientos 3 y 4 un solo género (*Bacillus subtilis* y *L.farciminis* respectivamente).

Como menciona Timmerman *et al.*, los factores que pueden afectar la acción de probióticos son los géneros, especies, dosis, forma de aplicación³⁶⁻³⁹.

Para el uso de probióticos comerciales, previamente tuvieron que pasar por pruebas para ser posteriormente comercializados, además de que han sido probados en diferentes ocasiones; Menconi *et al.* (2011)⁵⁶ probó Floramax B-11 vs *Salmonella Heidenberg* en pollos neonatales donde redujo significativamente la incidencia del patógeno en las tonsilas cecales a las 24h y 72h pos tratamiento. Torres-Rodríguez *et al.* (2007)⁵⁷ al administrar Floramax-B11 en pavos aumento la ganancia diaria de peso y el mercado de BW. Fritts *et al.* (2000)⁵⁸ al usar Calsporín mejoraron la ganancia de peso y la conversión alimenticia en pollos de los 21-42 días de producción.

Otro de los factores que influyen en la acción de los probióticos, se encuentran entre ellos la higiene de las instalaciones, durante la realización del experimento se manejó condiciones de limpieza en general, utilizándose cama nueva de aserrín por cada réplica de tratamiento, esto concordando con los resultados presentados por Torres-Rodríguez *et al.* (2007)⁵⁷ donde se encontró una mejor respuesta a los probióticos en pavos sometidos a pobres y medianas niveles de productividad, que los que tenían mejor nivel ambiental, por lo tanto en mejores condiciones de salud. En el experimento se manejó una densidad de 7 aves/m². Pelicano *et al.* (2003)⁹ ocuparon una densidad de 8 aves/m², en la cual no encontró diferencia en el amarillamiento de la pechuga lo cual no hubo un desafío para los probióticos.

El efecto en el rendimiento mostrado por los tratamientos con probióticos puede ser una consecuencia del hecho de que las aves fueron criadas en un entorno con

excelente condiciones profilácticas, y por lo tanto no han sido sometidos a desafíos.

La Figura 3, muestra el ascenso de los niveles de pigmento en plasma, hasta los 35 días que es donde llega a un pico y después disminuye, esto coincide con los datos reportados por Frade *et al.* (2012)⁵⁹ y Tepox (2012)⁶⁰ donde al analizar los niveles de plasma muestran un patrón similar; reportan que al administrar el pigmento en la dieta llega a un nivel estable al día 14 de consumo (día 35 de producción), esto puede deberse a un comportamiento en el metabolismo del pigmento a nivel sanguíneo, actualmente no existe información al respecto; por su parte los probióticos muestran una mayor concentración que el testigo al día 35; esto sugiere un estado intestinal mejor que el tratamiento testigo.

La concentración de xantofilas en el plasma con los probióticos es mayor que en la dieta control, que concuerda con Zhu *et al.* (2009)⁵ donde mencionan el incremento de carotenoides en plasma debido a la adición de probióticos en la dieta. Zhu *et al.* reportan que al adicionar 0.5% de *L. salivarius* tuvo la mejor concentración de xantofilas en el plasma (4.82µg/ml) a los 42 días de producción. Las concentraciones de este experimento fueron mayores con respecto a Zhu, debido a que la cantidad de xantofilas que manejó en la dieta fueron de 12.2 a 13.4 ppm. Este efecto en la concentración de xantofilas puede deberse a que los probióticos confieren mayor salud intestinal, reduciendo la biocapa y mejorando la absorción de xantofilas. Sin embargo los niveles cayeron después de llegar a su pico, lo cual sugiere que llega a un punto de saturación a nivel intestinal.

La mayor pigmentación de las hembras concuerda con Sirri *et al.* (2010)¹³ donde encontraron una diferencia en la pigmentación de la piel en la región de la pechuga de la canal de pollo con respecto al sexo, las hembras pigmentaron 24.9 b vs 20.4 de los machos criados en condiciones comerciales y también concuerda Muñoz *et al.* (2009)¹⁵ los cuales reportan que las hembras pigmentan 1.77 unidades b* más que los machos *in vivo* combinando diferentes niveles de energía y xantofilas en la dieta; esto puede deberse a que las hembras depositan mayor grasa corporal que los machos, en consecuencia se deposita mayor cantidad de pigmento en ellas.

Los resultados similares en la pigmentación de la piel del pollo *in vivo* en todos los tratamientos, concuerdan con Contreras *et al.* (2008)⁵¹ donde los parámetros de luminosidad (L*) y amarillamiento (b*) no fueron influenciados con la suplementación de probióticos.

Cortés *et al.* (2000)³⁴ y Pelicano *et al.* (2003)⁴⁴ reportan una tendencia a mejorar la pigmentación de la piel del pollo con suplementación con probióticos.

CONCLUSIONES:

De los resultados obtenidos bajo las condiciones experimentales empleadas, se puede concluir:

- El empleo de los probióticos no afectó la respuesta productiva por sexo (ganancia de peso, consumo de alimento y conversión alimentaria).
- Los machos consumieron más pigmento que las hembras; sin embargo las hembras pigmentaron 1.38b+ más que los machos.
- El uso de probióticos no mejoró la concentración de pigmento en plasma.
- El uso de probióticos no tuvo efecto en la pigmentación de la piel del pollo de engorda.

BIBLIOGRAFÍA

1. BAKER R, GÜNTER C. The role of carotenoids in consumer choice and the likely benefits from their inclusion into products for human consumption. *Food Science & Technology* 2004; 15: 484-488.
2. PEREZ-VENDRELL A, HERNANDEZ J, LLAURADO L, SCHIERLE J, BRUFAU J. Influence of source and ratio of xanthophyll pigments on broiler chicken pigmentation and performance. *Poul Sci* 2001; 80:320–326
3. CUCA M, ÁVILA E, PRO A. Alimentación de las aves 8ª edición. Estado de México, Méx. Universidad Autónoma de Chapingo, 2008.
4. COUNCIL OF THE EUROPEAN UNION. Council regulation on the authorization of the additive avilamycin in feeding stuffs, 2003. Disponible en: <http://register.consilium.eu.int/pdf/en/03/st06/st06120en03.pdf>. Consultado el: 8/2/ 2013. (25)
5. ZHU NH, ZHANG RJ, WU H, ZHANG B. Effects of *Lactobacillus* cultures on growth performance, xanthophyll deposition, and color of the meat and skin in broilers. *Poul Sci.* 2009; 18: 570–578. (12)
6. CORTÉS AC, ÁVILA EG, CASAUBON MTH, CARRILLO SD. El efecto del *Bacillus toyoi* sobre el comportamiento productivo en pollos de engorda. *Vet. Mex.* 2000; 31 (4): 301-308.
7. XU CL, JI C, MA Q, HAO K., JIN ZY, LI K. Effects of a Dried *Bacillus subtilis* Culture on Egg Quality. *Poul Sci.* 2006; 85: 364-368. (43)
8. MIKULSKI D, JANKOWSKI J, NACZMANSKI J, MIKULSKA M, DEMEY V. Effects of dietary probiotic (*Pediococcus acidolactici*) supplementation of

- performance, nutrient digestibility, egg traits, egg yolk cholesterol, and fatty acid profile in laying hens. *Poul Sci.* 2012; 91: 2691-2700. (44)
9. PELICANO ERL, DE SOUZA PA, DE SOUZA HBA, OBA A, NORKUS EA, KODAWARA LM, DE LIMA TMA. Effect of Different Probiotics on Broiler Carcass and Meat Quality. *Revista Brasileira de Ciência Avícola.* 2003; 5 (3): 207-214. (45)
 10. UNA.ORG.MX [página de inicio] México Actualizada en 2013; consultada el 10/05/2013 Compendio de indicadores económicos del sector avícola.
 11. CERVANTES JMS, GONZALEZ JJS. Surgimiento y desarrollo de la tecnología de la pigmentación en la avicultura mexicana en base al uso de cempasúchil. *Memorias de la Segunda Reunión Anual AECACEM*; 2009 febrero 27-29; Juriquilla (Querétaro) México. Asociación de Especialistas en Ciencias Avícolas del Centro de México, AC, 2009: 126.
 12. HENCKEN H. Chemical and physiological behavior of feed carotenoids and their effects on pigmentation. *Poultry Sci* 1992; 71:711–717.
 13. FERNÁNDEZ S. Pigmentación en Avicultura. En: PETRONE GVM Y HERNÁNDEZ VX, editores. *Producción Avícola Nutrición y alimentación avícola.* México: UNAM-FMVZ, 2001:150-171
 14. DAMRON BL, AMATO SV AND BENOFF FH. Marigold extracts and maize gluten meal as broiler pigment sources in maize and wheat-based diets. *Animal Feed Science and Technology* 1990; 31: 79-89
 15. CASTAÑEDA SMP; HIRSCHLER EM, SAMS AR. Skin Pigmentation Evaluation in Broilers Fed Natural and Synthetic Pigments. *Poul Sci*, 2005; 84:143–147

16. LIU GD, HOU GY, WANG DJ, LV SJ, ZHANG XY, SUN WP *et al.* Skin Pigmentation Evaluation in Broilers Fed Different Levels of Natural Okra and Synthetic Pigments. *J. Appl. Poult. Res.* 2008; 17: 498–504
17. SIRRI F, PETRACCI M, BIANCHI M, y MELUZZI A. Survey of skin pigmentation of yellow-skinned broiler chickens. *Poultry Sci.* 2010; 89:1556–1561.
18. PONSANO EH, PINTO MF and GARCIA MN. Evaluation of *rhodocyclus gelatinosus* biomass for broiler pigmentation. *J. Appl. Poult. Res.* 2002; 11: 77–82
19. MUÑOZ JI. Evaluación de la pigmentación cutánea del pollo de engorda alimentado con diferentes niveles de energía metabolizable (tesis de licenciatura). México. FMVZ-UNAM, 2009.
20. HERNANDEZ GM. Evaluación de la pigmentación del pollo de engorda comercializado en la Ciudad de México (Tesis de licenciatura) UNAM, 2000.
21. SERRATO-CRUZ MA. Manual Gráfico para la Descripción Varietal de Cempasúchil (*Tagetes* L.) Servicio Nacional de Inspección y Certificación de Semillas (SNICS-SAGARPA) y la Universidad Autónoma de Chapingo (UACH). 2006. México p 100.
22. JASSO RD, ANGULO-SÁNCHEZ JL y HERNÁNDEZ-CASTILLO FD. An overview of the antimicrobial properties of Mexican medicinal plants. *Nat Oc Bioact Comp* 2006; 14: 325-337

23. TYCZKOWSKI J, HAMILTON PB. Absorption, transport, and deposition in chickens of lutein diester, a carotenoid extracted from marigold (*Tagetes erecta*) petals. *Poultry Sci.* 1986; 65:1526–1531.
24. DELGADO-VARGAS F. O PAREDES-LOPEZ. Natural pigments: carotenoids, anthocyanins, and betalains –characteristics, biosíntesis, processing and stability. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 2003; 40: 173-289.
25. FLETCHER DL, PAPA CM. The effect of saponification on the broiler coloring capability of marigold extracts. *Poult. Sci.* 1986; 65: 1708-1714.
26. TYCZKOWSKI JK, HAMILTON PB. Lutein as a model dihydroxycarotenoid for the study of pigmentation in chickens. *Poult. Sci.* 1986b; 65: 1141-114.
27. BREITHHAUPT DE, WELLER P, GRASHORN MA. Quantification of carotenoids in chicken plasma after free of esterified lutein and capsanthin using high-performance liquid chromatography and liquid chromatography-mass spectrometry analysis. *Poult.Sci.* 2003; 82: 395-401.
28. SCHEIDT K. Absorption and metabolism of carotenoids in birds, fish and crustaceans. In: Britton G, Liaaen JS. Pfander H. Editors. *Carotenoids. Vol 3. Biosynthesis.* Birkhäuser Verlag. Basel, Switzerland. 1998; 285-352.
29. TYCZKOWSKI J, SCHAEFFER JL and HAMILTON PB. Measurement of malabsorption of carotenoids in chickens with palebird syndrome. *Poultry Sci.* 1991; 70: 2275–2279.
30. PORTAL VETERINARIA ALBÉITAR [homepage on the internet]. Actualizada 22/10/2012; Consultado el 22/10/2012. Disponible en

<http://albeitar.portalveterinaria.com/noticia/11356/ARTICULOS-AVES/La-salud-intestinal-de-los-pollos-de-carne.html>

31. AVICULTURA.COM.MX [homepage on the internet]. Actualizada 24/4/09; Consultado el 22/10/2012. Disponible en http://www.porcicultura.com/avicultura/home/articulos_int.asp?cve_art=458
32. WATTAGNET [homepage on the internet]. Actualizada el 31-08- 2011; consultada el 22/10/2012. Disponible en <http://www.wattagnet.com/25803.html>.
33. FAO/WHO. (Food and Agriculture Organization/World Health Organization) working group report on drafting guidelines for the evaluation of probiotics in food. 2002: 1–11.
34. FULLER, R. Probiotics in man and animals. *Journal of Applied Bacteriology* 1989; 66(5):365-378.
35. GAGGIA F, MATTARELLI P, BIAVATI B. Probiotics and prebiotics in animal feeding for safe food production. *International Journal of Food Microbiology* 2010; 141: S15–S28
36. TIMMERMAN HM, KONING CJ, MULDER L, ROMBOUITS FM, BEYNEN AC. Monostrain, multistrain and multispecies probiotics—a comparison of functionality and efficacy. *Inter Jour of Food Micro*. 2004; 96: 219–233.
37. SAZAWAL S, HIREMATH G, DHINGRA U, MALIK P, DEB S, BLACK RE. Efficacy of probiotics in prevention of acute diarrhoea: a meta-analysis of masked, randomised, placebo-controlled trials. *Lancet Infectious Diseases*. 2006; 6: 374–382.
38. MOUNTZOURIS KC, TSITRSIKOS P, PALAMIDI I, ARVANITI A, MOHNL M, SCHATZMAYR G, FEGEROS K. Effects of probiotic inclusion levels in broiler

nutrition on growth performance, nutrient digestibility, plasma immunoglobulins, and cecal microflora composition. Poul Sci. 2010; 89: 58–67.

39. DE FARIA DE, FERREIRA AH, FRANZOLIN RN, APARECIDA AM, MACK OJ, E DE FARIA EDF. Alternativas ao uso de antibióticos como promotores de crescimento para frangos de corte: 1. probióticos. *Ciência Animal Brasileira*. 2009; 10 (1): 18-28.
40. MUSA HH, WU SL, ZHU CH, SERI HI, ZHU GQ. The potential benefits in animal production and health. *Journal of Animal and Veterinary Advances* 2009; 8 (2): 313-321.
41. CORTES CA, ÁVILA GE, CASAUBON HMT, CARRILLO DS. El efecto del *Bacillus toyoi* sobre el comportamiento productivo en pollos de engorda. *Veterinaria México* 2000; 31 (4).
42. CHAMBERS JR, GONG J. The intestinal microbiota and its modulation for Salmonella control in chickens. *Food Research International* 2011; 44: 3149-3159.
43. SAMANIEGO, L. SOSA, M. 2002. *Lactobacillus* spp.: Importantes promotores de actividad probiótica, antimicrobiana y bioconservadora. Centro de Estudios Biotecnológicos. Facultad de Agronomía. Universidad de Matanzas “Camilo Cienfuegos”. Matanzas, Cuba. Consultado el 19-04-2011. <http://www.bibliociencias.cu/gsd/collect/libros/index/assoc/HASH011d/e18c5081.dir/doc.pdf>
44. JARAMILLO D, MELÉNDEZ AP, SÁNCHEZ O. Evaluación de la producción de bacteriocinas a partir de Lactobacilos y Bifidobacterias. *Rev Ven de Ciencia y Tecnología de Alimentos*. 2010; 1 (2): 193-209.

45. CARTMAN ST, LA RAGIONE RM, WOODWARD MJ. *Bacillus subtilis* spores germinate in the chicken gastrointestinal tract. Appl. Environ. Microbiol. 2008; 74: 5254–5258.
46. BARBOSA TM, SERRA CR, LA RAGIONE RM, WOODWARD MJ, HENRIQUES AO. Screening for *Bacillus* isolates in the broiler gastrointestinal tract. Appl. Environ. Microbiol. 2005; 71: 968– 978.
47. HIGGINS JP, HIGGINS SE, WOLFENDEN AD, HENDERSON SN, TORRES-RODRIGUEZ A, VICENTE JL, HARGIS BM AND TELLEZ G. Effect of lactic acid bacteria probiotic culture treatment timing on *Salmonella* Enteritidis in neonatal broilers. Poult. Sci. 2010; 89: 243–247.
48. GHAREEB K, AWARD WA, MOHNL M, PORTA R, BIARNÉS M, BÖHM J and SCHATZMAYR G. Evaluating the efficacy of an avian-specific probiotic to reduce the colonization of *Campylobacter jejuni* in broiler chickens. Poult. Sci. 2012; 91: 1825-1832.
49. HUANG MK, CHOI YJ, HOUDE R, LEE JW, LEE B, ZHAO X. Effects of *Lactobacilli* and an acidophilic fungus on the production performance and immune responses in broiler chickens. Poult. Sci. 2004; 83: 788–795.
50. AVIAGEN Group. Ross Suplemento de nutrición del pollo de engorde. 2009.
51. JANKY DM. The use of the Minolta reflectance chroma meter II™ for pigmentation evaluation of broiler shanks. Poult Sci. 1986: 65(3); 491-496.
52. ALLEN PC. Physiological responses of chicken gut tissue to coccidial infection comparative effect of *Eimeria acervulina* and *Eimeria mitis* on mucosal mass,

- carotenoid content, and brush border enzyme activity. *Poult. Sci.* 1987; 66: 1306-1315.
53. DOS SANTOS II, POLI A, SANGOI M. Desempenho zootécnico e rendimento de carcaça de frangos de corte suplementados com diferentes probióticos e antimicrobianos. *Act Scien Ani Sci.* 2004; 26 (1): 29-33.
54. AGUAVIL JC. Evaluación del efecto de un probiótico nativo elaborado en base a *Lactobacillus acidophilus* y *Bacillus subtilis* sobre el sistema gastrointestinal en pollos broiler Ross-308 en Santo Domingo de los Tsáchilas (tesis de licenciatura). Santo Domingo, Ecuador: Escuela politécnica del ejército, 2012.
55. CONTRERAS-CASTILLO CJ, BROSSI C, PREVIERO TC, DEMATTÊ LC. Performance ad carcass quality of broilers supplemented with antibiotics or probiotics. *Revista Brasileira de Ciência Avícola.* 2008; 10 (4): 227-232.
56. MENCONI A, WOLFENDEN AD, SHIVARAMAIAH S, TERRAES JC, URBANO T, KUTTEL J, *et al.* Effect of lactic acid bacteria probiotic culture for the treatment of *Salmonella enterica* serovar Heidelberg in neonatal broiler chickens and turkey poults. *Poult Sci.* 2011; 90: 561–565.
57. TORRES-RODRIGUEZ A, DONOGHUE AM, DONOGHUE DJ, BARTON JT, TELLEZ G, HARGIS BM. Performance and Condemnation Rate Analysis of Commercial Turkey Flocks Treated with a *Lactobacillus* spp.-Based Probiotic. *Poult Sci* 2007; 86:444–446.
58. FRITTS CA, KERSN JH, MOTL MA, KROGER EC, YAN E, SI J, JIANG Q, *et al.* *Bacillus subtilis* c-3102 (calsporin) improves live performance and microbiological status of broiler chickens. *J. Appl. Poultry Res.* 2000; 9: 149-155.

59. FRADE NNJ, GONZALEZ LA, HERNANDEZ VX, FUENTE MB, QUIROZ PM, AVILA GE. Efecto de la coccidiosis subclínica en la pigmentación de la piel del pollo de engorda y la concentración plasmática de xantofilas. Memorias de Sexta Reunión Anual AECACEM; 2013 febrero 20-22; San Juan del Río (Querétaro) México. Asociación de Especialistas en Ciencias Avícolas del Centro de México, AC, 2013: 77-82.
60. TEPOX MAP. Absorción, depósito y eliminación de pigmento con diferentes programas de adición de xantofilas en dietas de pollo de engorda (Tesis de maestría). Distrito Federal, México: FMVZ-UNAM, 2013.

CUADROS Y FIGURAS

Cuadro 1. Composición de las dietas experimentales empleadas (kg).

Ingrediente	Iniciador	Crecimiento ^T	Finalizador ^T
Sorgo	517.219	569.731	649.873
Pasta de soya	370.859	310.769	228.870
Harina carne y hueso	63.027	55.992	55.117
Aceite vegetal	27.818	43.803	43.895
Carbonato de calcio	5.836	5.486	7.409
DL-metionina	4.081	3.578	2.603
L-lisina HCl	3.167	2.780	2.353
Sal	2.847	2.974	3.009
L-treonina	1.696	1.437	0.581
Cloruro de colina 60%	1.000	1.000	1.000
Premezcla de vitaminas ¹	1.000	1.000	1.000
Coccidiostato ²	0.500	0.500	0.500
Premezcla de minerales ³	0.500	0.500	0.500
Antioxidante ⁴	0.150	0.150	0.150
Pigmento amarillo ⁵	0.000	0.000	2.840
Total	1000.000	1000.000	1000.000

*30 g de xantofilas amarillas por kg. Vepinsa S.A de C.V.

¹ Vitaminas/kg: vitamina A 20,000,000 UI, vitamina D3 6,000,000 UI, vitamina E 75,000 UI, vitamina K3 menadiona 9g, 16mg, ácido ascórbico 200g. Excipiente cbp 1000g

² Coccidiostato: Iniciador y crecimiento: nicarbacina Finalizador: monensina sódica.

³ Minerales/kg: Cantidad por kg: manganeso (120.0g), zinc (100.0g), hierro (120.0g), cobre (12.0g), yodo (0.7g), selenio (0.4g), cobalto (0.2g), cbp. (1000g)

⁴ Antioxidante: IQ-AN

⁵ FLORAFIL 93 POWDER (Vepinsa): 30g/kg (mínimo) dde xantofilas totales.

Cuadro 2. Análisis Calculado de las dietas experimentales.

Nutriente	Iniciador	Crecimiento	Finalizador
Proteína cruda %	24.0	22.0	19.0
Energía metabolizable kcal/kg	3000	3137	3200
Lisina %	1.54	1.34	1.09
Metionina +Cistina %	1.10	1.05	0.87
Treonina %	1.06	1.00	0.78
Valina %	1.22	1.12	0.96
Lisina digestible %	1.27	1.20	0.97
Metionina +Cistina digestible%	0.94	0.93	0.76
Treonina digestible %	0.83	0.85	0.65
Triptofano digestible %	0.58	0.23	0.19
Arginina digestible %	1.31	1.30	1.05
Calcio total %	1.00	0.80	0.85
Fósforo disponible %	0.50	0.43	0.42
Sodio %	0.16	0.16	0.16

Cuadro 3. Parámetros productivos a los 49 días de edad de pollos alimentados con probióticos

Tratamientos	Hembras	Machos	promedio
Ganancia de peso (g)			
Testigo (-)	2276±31.6	2641±31.6	2458±22.3 ^a
<i>L.acidophilus</i>	2287±31.6	2642±31.6	2465±22.3 ^a
<i>B. subtilis</i>	2284±31.6	2586±31.6	2435±22.3 ^a
<i>L.farciminis</i>	2312±31.6	2599±31.6	2456±22.3 ^a
Promedio	2290±15.8 ^b	2617±15.8 ^a	
Consumo de alimento (g)			
Testigo (-)	5436±57.7	5855±57.7	5645±40.8 ^a
<i>L.acidophilus</i>	5354±57.7	5941±57.7	5648±40.8 ^a
<i>B. subtilis</i>	5318±57.7	5809±57.7	5563±40.8 ^a
<i>L.farciminis</i>	5381±57.7	5822±57.7	5602±40.8 ^a
Promedio	5372±28.8 ^b	5857±28.8 ^a	
Conversión alimenticia (kg:kg)			
Testigo (-)	1.955±0.01	1.851±0.01	1.903±0.01 ^a
<i>L.acidophilus</i>	1.951±0.01	1.877±0.01	1.914±0.01 ^a
<i>B. subtilis</i>	1.938±0.01	1.874±0.01	1.906±0.01 ^a
<i>L.farciminis</i>	1.943±0.01	1.861±0.01	1.902±0.01 ^a
Promedio	1.947±0.009 ^a	1.866±0.009 ^b	

Promedio ± error estándar de la media
 Literales diferentes en la misma línea o columna muestran diferencia estadística (P<0.05)

Cuadro 4. Consumo de pigmento acumulado a los 49 días de edad en pollos alimentados con probióticos

Tratamientos	Hembras (mg)	Machos (mg)	promedio
Testigo (-)	378.3±4.91	415.9±4.91	397.1±3.47 ^a
<i>L.acidophilus</i>	379.5±4.91	421.6±4.91	400.6±3.47 ^a
<i>B. subtilis</i>	376.4±4.91	412.0±4.91	394.2±3.47 ^a
<i>L.farciminis</i>	382.2±4.91	411.4±4.91	396.8±3.47 ^a
Promedio	379.1±2.45 ^b	415.2±2.45 ^a	

Promedio ± error estándar de la media

Literales diferentes en la misma línea o columna muestran diferencia estadística (P<0.05)

Cuadro 5. Xantofilas en plasma a los 49 días de edad en pollos de engorda alimentados con probióticos

Tratamientos	Hembras (µg/ml)	Machos (µg/ml)	promedio
Testigo (-)	17.2±1.06	17.4±1.02	17.3± ^b
<i>L.acidophilus</i>	19.2±1.02	19.7±1.02	19.4± ^{ab}
<i>B. subtilis</i>	19.3±1.02	18.1±1.06	18.7± ^{ab}
<i>L.farciminis</i>	19.4±1.02	20.9±1.02	20.1± ^a
Promedio	18.8±0.51 ^a	19.0±0.51 ^a	

Promedio ± error estándar de la media

Literales diferentes en la misma línea o columna muestran diferencia estadística (P<0.05)

Cuadro 6. Amarillamiento de la piel a los 49 días de edad en pollos alimentados con probióticos

Tratamientos	Hembras (b*)	Machos (b*)	promedio
Testigo (-)	19.3±0.73	18.8±0.71	19.1±0.51 ^a
<i>L.acidophilus</i>	20.7±0.71	19.9±0.71	20.3±0.50 ^a
<i>B. subtilis</i>	20.3±0.71	17.6±0.71	18.9±0.50 ^a
<i>L.farciminis</i>	20.6±0.73	19.2±0.71	19.9±0.51 ^a
Promedio	20.2±0.36 ^a	18.9±0.35 ^b	

Promedio ± error estándar de la media

Literales diferentes en la misma línea o columna muestran diferencia estadística (P<0.05)

FIGURAS

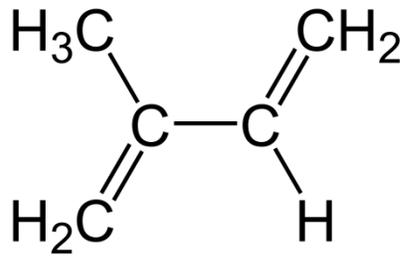


Figura 1. Isopreno

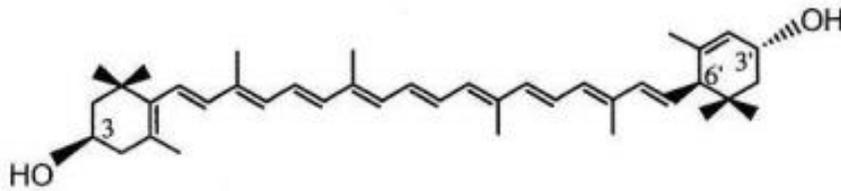


Figura 2. Oxicarotenoides (Luteína)

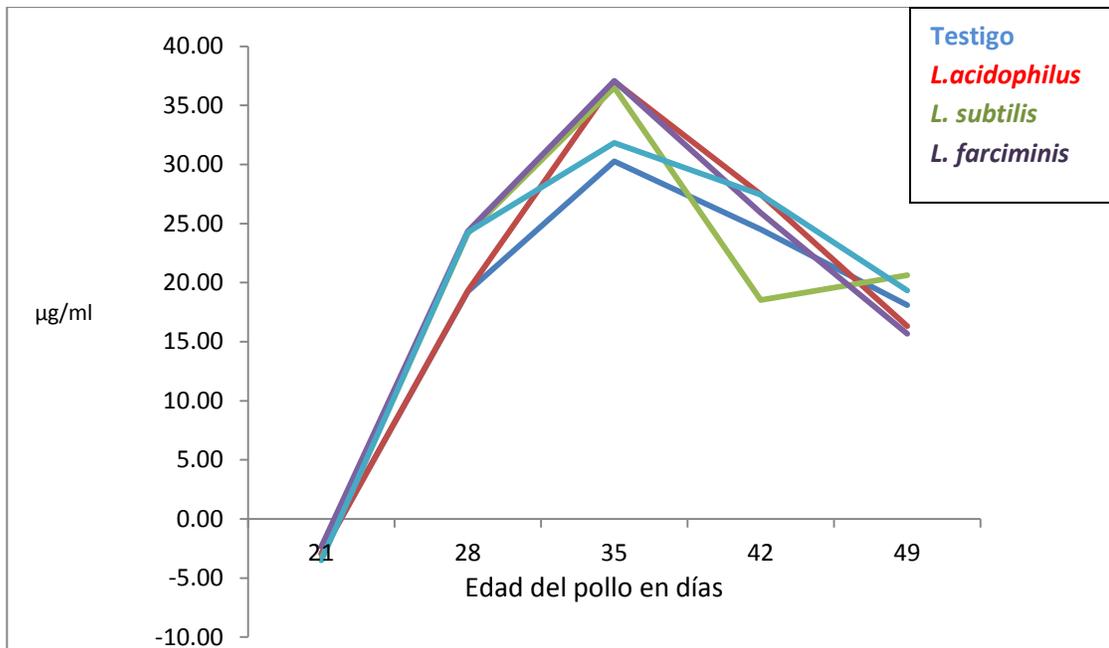


Figura 3. Xantofilas plasmáticas ($\mu\text{g/ml}$) de los 21 42 días de edad en pollos de engorda machos y hembras alimentados con 85 ppm de *Tagetes erecta* y probióticos

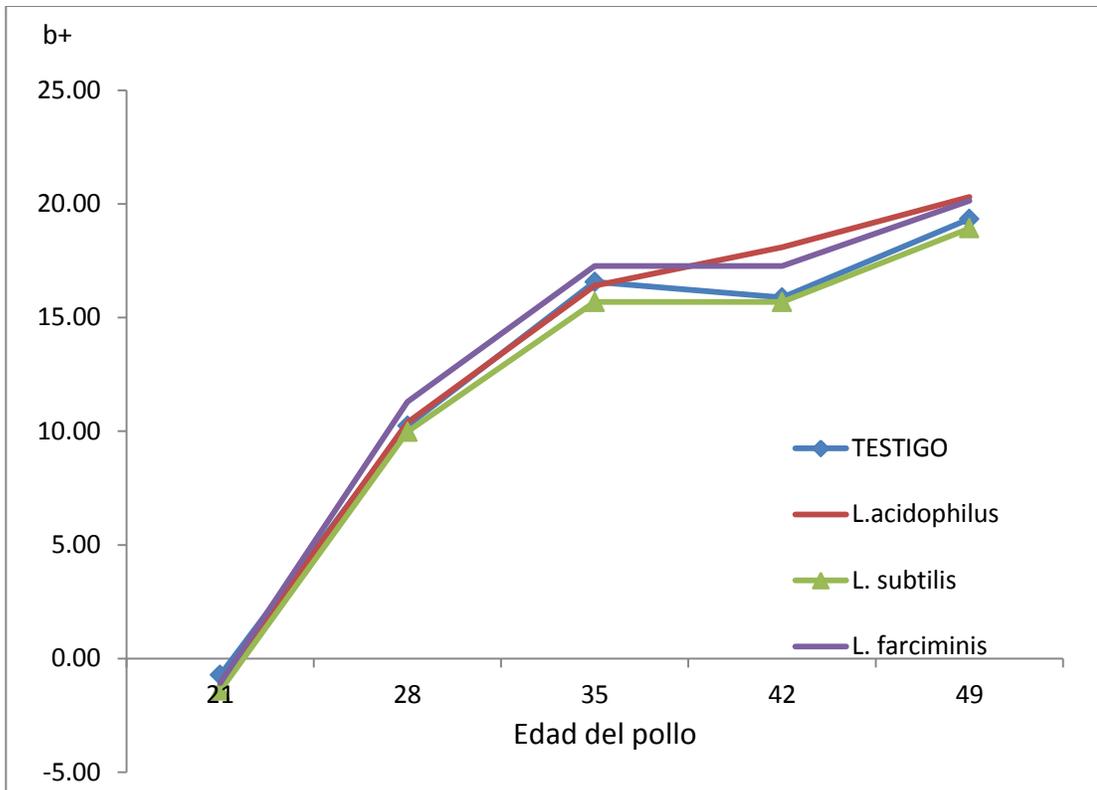


Figura 4. Amarillamiento cutáneo (b*) in vivo de los 21 a 49 días de edad en pollos de engorda alimentados con probióticos