

Evaluación de *Lactobacillus plantarum* y Levadura de Cerveza Hidrolizada como mezcla en la producción de cerdos. **(Preliminar).**

Ernesto Hurtado ¹

¹ Área Agropecuaria, Carrera Pecuaria, Escuela Superior Politécnica de Manabí Manuel Félix López, Calceta, Ecuador. Contacto: ernestohurta@gmail.com

Resumen

En los laboratorios de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López, se realiza la evaluación probiótica en cerdos, con la finalidad de mejorar el bienestar animal que permita incrementar los índices productivos. Se dispone de las cepas que previamente han sido aisladas: *Lactobacillus plantarum*, levadura hidrolizada y su mezcla como tratamientos para conocer la variabilidad en el comportamiento productivo y microbiológico de los cerdos en las etapas de gestación y engorde, bajo un diseño completamente al azar. Las cepas se refrescarán para la preparación del biopreparado. Se seleccionarán cerdas en el último mes de gestación, con edades similares y de genética homogénea (Landrace x Pietrain). Se les suministrarán *Lactobacillus plantarum*, a dosis de 15×10^{-10} UFC.mL-1, levadura hidrolizada de cerveza 12×10^{-9} UFC.mL-1 y sus mezclas que corresponderán a los tratamientos. A los lechones nacidos se les aplicará dosis mas bajas hasta el engorde. Se determinarán variables productivas (consumo, ganancia de peso, peso final, mortalidad) y microbiológicas. Los resultados esperados de los tratamientos es un efecto positivo en la colonización y adhesión en el intestino grueso que junto con la respuesta productiva indicara la alternativa viable del probiótico.

Palabras clave: probiótico, *Lactobacillus plantarum*, levadura de cerveza, cerdos, aditivos nutricionales.

Introducción

La Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López, en su carrera de Pecuaria tiene como objetivo fundamental la calidad investigativa de sus estudiantes y profesores con tecnología de vanguardia, siempre enfocada al desarrollo local, regional y nacional. Como parte de esta premisa desde el 2009 se viene realizando investigaciones sobre los prebióticos, el cual ha consistido en: aislamiento de *Bacillus* y *Lactobacillus* en el tracto digestivo de aves, camarones y cerdos; selección de cepas con mejor actividad probiótica *in vitro* y la evaluación en los animales de interés zootécnico.

En la actualidad ante disposiciones a nivel mundial acerca del uso de antibióticos y promotores de crecimiento, la utilización de aditivos funcionales para mantener el control de enterobacterias patógenas es una alternativa viable en un programa de seguridad alimentaria. Sobre este interés, además de conocer que la utilización de probióticos en la alimentación de cerdos es una alternativa natural para propiciar y mantener la salud intestinal, es que se pretende llevar a cabo la evaluación del *Lactobacillus plantarum* en combinación con la Levadura Hidrolizada de Cerveza en la alimentación de cerdos.

Desarrollo

Antecedentes Bibliográficos.

Los probióticos son microorganismos viables que una vez ingeridos producen efectos beneficiosos para el huésped: estimulan una respuesta inmune no específica, mejoran la protección inmune, eliminan las bacterias patógenas del organismo y mejoran la asimilación de las sustancias nutritivas (Fuller, 1989; FAO, 2002; Hooper *et al.*, 2002). (Figura 1). En la actualidad se ha incrementado la demanda de carne inocua y cualitativa en el mercado, por lo que los productores están dispuestos a usar suplementos naturales, económicos y seguros, que beneficien a los animales en salud, aumente su productividad, mejore la calidad de la producción y no ponga en peligro el medio ambiente (Allan y Bilkei, 2005;

Huguet *et al.*, 2006). Los preparados probióticos son en este tiempo los que reúnen estas características y los hacen una alternativa (Bakulina *et al.*, 2001; Guo *et al.*, 2006; Gámez, 2010).

Las bacterias del genero *Lactobacillus* tienen esa acción probiótica y muchas de sus especies han sido utilizadas. Sin embargo, Suo *et al* (2012) mencionan que los experimentos que han usado el *Lactobacillus plantarum* son escasos, pero existen evidencias que mejoran el crecimiento de los animales y la calidad de la carne. Gámez *et al* (2013) y Gámez *et al* (2013^a) hacen referencia su uso en lechones en fase de precebo con una respuesta positiva en la salud, sobrevivencia y ganancia de peso. Con respecto a la levadura, García (2002) señala que esta proporciona vitaminas del complejo B y minerales. Además de ser es una buena fuente de proteína y de aminoácidos. Mientras Molist *et al* (2014) señalan que los derivados de levadura basados en *Saccharomyces cerevisiae* pueden mejorar el rendimiento y la salud de los lechones al estimular el sistema inmune y el mantenimiento de un ambiente intestinal beneficioso.

Cepas Bacterianas y la Inoculación de Probióticos.

Se utilizó una cepa previamente aislada de la mucosa intestinal del cerdo en el Laboratorio Biología Molecular de la ESPAM MFL. Esta fue identificada como *Lactobacillus plantarum* (cepa 41), que se encontraba crioconservada -20°C, en tioglicolato. El refrescamiento consistió en reactivar en caldo MRS e incubada por 24 h a 37°C. Se inoculó en un recipiente con caldo MRS haciendo un total de 1 lt. Posteriormente, se procedió al conteo de viables a través del método de las diluciones seriadas, en una relación de inoculación de 1:10 (v/v) en agua de peptona (OXOID), desde 10⁻¹ hasta 10⁻¹². Las tres últimas diluciones se inocularon individualmente (1 mL) a profundidad en placas con agar MRS (De Mann *et al.* 1960 citado por Rondón *et al.* 2013). Esta operación se replicó tres veces y las placas se incubaron a 37 °C en condiciones de anaerobiosis durante 48 h. El número de unidades formadoras de colonias (UFC) se determina con lupa, por conteo visual de colonias. El biopreparado se conservará a 5 °C hasta su utilización.

La levadura hidrolizada se refrescó la cepa E-54 que es un *Bacillus subtilis* en cuñas de agar nutriente. Se preparó el crudo enzimático (optimizado variante 16) con sus componentes y se inoculó la cepa previamente crecida. Luego la incubación se realizó por 8-10 h en condiciones de zaranda para que la cepa liberara al medio las enzimas. Seguidamente se tendrá preparado los componentes del suplemento alimenticio con la crema de levadura y demás componentes.

Animales y Tratamientos.

Se seleccionarán cerdas en el último mes de gestación, con edades similares y de genética homogénea (Landrace x Pietrain). Se les suministrarán *Lactobacillus plantarum*, a dosis de 15×10^{-10} UFC.mL⁻¹, levadura hidrolizada de cerveza 12×10^{-9} UFC.mL⁻¹ y sus mezclas que corresponde a los tratamientos, además se tendrá un grupo control que no recibirán ningún tratamiento. Se realizarán tres réplicas en el tiempo, en épocas de invierno y verano. Se evaluarán indicadores microbiológicos al nacimiento y lactancia. Al mismo grupo de lechones producto del nacimiento en la etapa de destete y posdestete se les suministrará *Lactobacillus plantarum* con dosis 3×10^{-11} UFC.mL⁻¹, levadura hidrolizada de cerveza 3×10^{-10} UFC.mL⁻¹ y su mezcla a los que se evaluarán indicadores fisiológicos. A este mismo grupo, en la etapa de preceba y finalización, se le seguirá suministrando la misma cantidad de los biopreparados, se separarán por sexo para evaluar los indicadores productivos, de salud y económicos. Para estos se utilizará un grupo control sin suministro de los biopreparados para el análisis comparativo.

Microbiológicos. Se tomarán muestras del intestino de bacterias ácido lácticas. A partir de las diluciones seleccionadas de todas las muestras tomadas, se sembrará 1 mL de la dilución escogida en 3 placas de Petri con medio selectivo Agar MRS por el método de siembra profunda, para favorecer el crecimiento en anaerobiosis. La incubación de las placas se realizará en atmósfera de dióxido de carbono (CO₂), en cámara de anaerobiosis, durante 48 horas a 37° C. Posteriormente, se seleccionarán las colonias típicas crecidas en cada placa,

teniendo en cuenta las diferencias en cuanto a morfología y aspecto general, para contar con una colección de colonias típicas. A continuación se realizará la siembra de dichas colonias en el medio semisólido Tioglicolato, con carbonato de calcio (0,1 g por tubo).

Diseño y Análisis estadístico

Se realizará un diseño completamente el azar, teniendo como efecto fijo los tratamientos utilizados (*Lactobacillus plantarum*, levadura hidrolizada y mezcla). Los datos se representarán como media \pm desviación estándar. Mientras que las observaciones de las variables de comportamiento productivo (consumo, ganancia de peso, peso final, mortalidad) y microbiológico se analizarán por procedimientos estándar de ANOVA, usando software estadística (SAS, versión 9), para determinar la existencia de diferencias significativas causadas por el tratamiento probiótico y seguidamente comparaciones de media (Duncan al 5 %) para conocer el mejor tratamiento.

Resultados Previos y Esperados.

En la actualidad se han realizado los distintos ensayos a nivel de laboratorio para refrescar las cepas en estudio para confirmar la viabilidad, la cual ha sido óptima. Se espera que el uso del biopreparado *Lactobacillus plantarum*, levadura hidrolizada de cerveza y la mezcla mejore la microbiota intestinal y la fisiología digestiva. Además de los indicadores productivos de salud en las etapas de lactancia, destete y finalización en cerdos.

Bibliografía

Allan, P. and Bilkei, G. 2005. Oregano improves reproductive performance of sows, Theriogenology, 63, 716–721.

Bakulina, L., Timofeev, I. and Perminova, N. 2001. Probiotic preparations produced on the basis of sporeforming strains of *Lactobacillus* in veterinary research, Biotechnology. 2,48–56 .

FAO. 2002. Guidelines for the evaluation of probiotics in food, Report of a joint FAO-Who Working Group on Drafting Guidelines for the evaluation of probiotics in food, London, Ontario, Canada, April 30th, and May 1st.

Fuller, R. 1989. Probiotics in man and animals, J Appl. Bacteriol., 66, 365–378.

Gámez, H. (2010). Evaluación de bacterias ácido-lácticas con características probióticas en la alimentación de lechones en fase de precebo como alternativa al uso de antibióticos. [Tesis Doctoral]. Cali, Colombia: Universidad del Valle, Escuela de Ingeniería de Alimentos.

Gámez, H., Ramírez, C. y Martínez, J. 2013. Evaluación in vivo de *Lactobacillus plantarum* como alternativa al uso de antibióticos en lechones. Revista MVZ Córdoba, 18(3), 3648-3657.

Gámez, H., Romo-Pazmiño, S. y Benavides-Delgado, V. 2013^a. Evaluación del efecto probiótico de *lactobacillus plantarum* en la alimentación de lechones en fase de precebo como una alternativa del uso de antibióticos: una revisión. Revista Investigación Pecuaria, 2(1).

García, S. 2002. Las levaduras para la alimentación de los porcinos (*Saccharomyces cerevisiae*). En: Comunidad de Negocios Internacionales Relacionados con la Producción Animal. <http://www.Engormix.com>; consulta: agosto 2015.

Guo, X., Li, D., Lu, W., Piao, X., and Chen, X. 2006. Screening of Bacillus strains as potential probiotics and subsequent confirmation of the in vivo effectiveness of *Bacillus subtilis* MA139 in pigs, Antonie van Leeuwenhoek, 90, 139–146.

Hooper, L., Midtvedt, T. and Gordon, J. 2002. How host-microbial interactions shape the nutrient environment of the mammalian intestine. Annual review of nutrition, 22(1), 283-307.

Huguet, A., Sève, B., Le Dividich, J., and Le Huërou-luron, I. 2006. Effects of a bovine colostrum-supplemented diet on some gut parameters in weaned piglets, *Reprod. Nutr. Dev.*, 46, 167–178.

Molist, F., Eerden, E., Parmentier, H. and Vuorenmaa, J. 2014. Effects of inclusion of hydrolyzed yeast on the immune response and performance of piglets after weaning. *Animal Feed Science and Technology*, 195, 136-141.

Rondón, A., Ojito, Y., Arteaga, F., Laurencio, M., Milián, G., y Pérez, Y. 2013. Efecto probiótico de *Lactobacillus salivarius* C 65 en indicadores productivos y de salud de cerdos lactantes. *Revista Cubana de Ciencia Agrícola*, 47(4), 401-407.

Suo, C., Yin, Y., Wang, X., Lou, X., Song, D., Wang, X. and Gu, Q. 2012. Effects of *Lactobacillus plantarum* ZJ316 on pig growth and pork quality. *BMC Veterinary Research*, 8:89.

Anexo

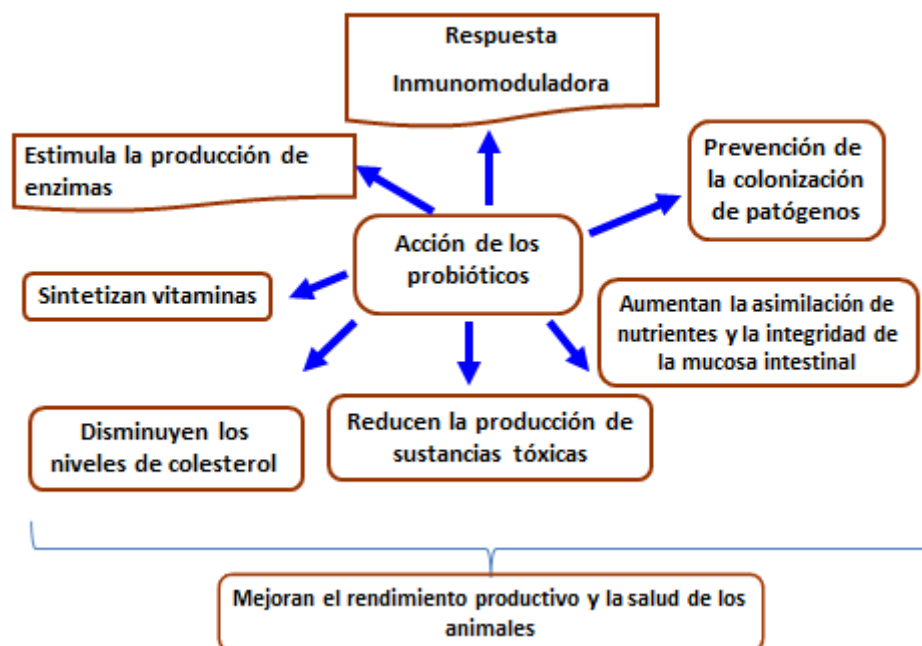


Figura 1. Modo de acción de *Bacillus* y *Lactobacillus* (Hooper *et al.*, 2002)