

Efecto de una formulación probiótica a base de un consorcio de actinomicetos sobre el rendimiento productivo e integridad intestinal en pollos de carne

Effect of a probiotic formulation based on a consortium of actinomycetes on productive performance and intestinal integrity in broilers

Daniel Molina M.^{1,4}, Sandra Espinoza C.¹, Carlos Sialer G.¹, Dina Horna I.¹,
Rosalía Quichua B.², Carlos Vilchez-Perales², Aída Cordero R.³

RESUMEN

Se evaluó el efecto de una fórmula probiótica conteniendo un consorcio de actinomicetos sobre el rendimiento productivo e integridad intestinal de pollos de carne de 1 a 28 días de edad criados en baterías experimentales. Se emplearon 320 pollos machos Cobb 500, distribuidos al azar en cuatro tratamientos con ocho repeticiones y diez pollos por repetición: T1, dieta basal (sin promotores de crecimiento); T2, dieta basal + promotores de crecimiento (tilosina 200 g/t, salinomicina + nicarbazina 500 g/t); T3, dieta basal + *Bacillus subtilis* (100 g/t); T4, dieta basal + consorcio de actinomicetos (100 g/t). A los 21 y 28 días de edad se sacrificaron ocho aves por tratamiento para evaluar la integridad intestinal (histomorfometría intestinal) y peso relativo de órganos. A los 14

¹ Área de Investigación, Desarrollo e Innovación, Ilender Perú S.A., Lima, Perú

² Departamento Académico de Nutrición, Facultad de Zootecnia, Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima, Perú

³ Laboratorio de Microbiología, Facultad de Zootecnia, Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima, Perú

⁴ E-mail: molinamezadaniel@gmail.com

Recibido: 13 de septiembre de 2021

Aceptado para publicación: 6 de abril de 2022

Publicado: 29 de junio de 2022

©Los autores. Este artículo es publicado por la Rev Inv Vet Perú de la Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Este es un artículo de acceso abierto, distribuido bajo los términos de la licencia Creative Commons Atribución 4.0 Internacional (CC BY 4.0) [<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/deed.es>] que permite el uso, distribución y reproducción en cualquier medio, siempre que la obra original sea debidamente citada de su fuente original

días de edad, el consorcio de actinomicetos mejoró significativamente la conversión alimenticia frente al grupo que recibió una dieta basal ($p < 0.05$) y presentó un rendimiento similar frente a los otros grupos tratados ($p > 0.05$). No hubo diferencias estadísticas entre los tratamientos para las variables productivas a los 7, 21 y 28 días de edad ($p > 0.05$). La profundidad de cripta y su relación con la longitud de vellosidad en duodeno y yeyuno fueron influenciadas significativamente por la administración del consorcio de actinomicetos en comparación con el grupo que recibió una dieta basal ($p < 0.05$) siendo estadísticamente similar al resto de grupos tratados ($p > 0.05$) a los 21 días. El peso relativo de los órganos no se vio influenciado por los tratamientos a los 21 días de edad ($p > 0.05$), mientras que el peso relativo del bazo fue estadísticamente menor en el grupo suplementado con el consorcio de actinomicetos frente al tratado con promotores de crecimiento a los 28 días de edad ($p < 0.05$). El consorcio de actinomicetos mejoró el rendimiento productivo e integridad intestinal de forma similar a los promotores de crecimiento y al probiótico comercial bajo evaluación, representando una alternativa para su reemplazo eficaz en la alimentación de pollos de carne.

Palabras clave: probióticos, actinomicetos, pollos de carne, rendimiento productivo, integridad intestinal

ABSTRACT

The effect of a probiotic formula containing a consortium of actinomycetes on the productive performance and intestinal integrity of broiler chickens from 1 to 28 days of age reared in experimental batteries was evaluated. A total of 320 male Cobb 500 chickens were used, randomly distributed in four treatments with eight repetitions and ten chickens per repetition: T1, basal diet (without growth promoters); T2, basal diet + growth promoters (tylosin 200 g/t, salinomycin + nicarbazin 500 g/t); T3, basal diet + *Bacillus subtilis* (100 g/t); T4, basal diet + actinomycetes consortium (100 g/t). At 21 and 28 days of age, eight birds per treatment were slaughtered to assess intestinal integrity (intestinal histomorphometry) and relative organ weight. At 14 days of age, the actinomycetes consortium significantly improved feed conversion versus the group receiving a basal diet ($p < 0.05$) and had similar performance compared to the other treated groups ($p > 0.05$). There were no statistical differences between the treatments for the productive variables at 7, 21 and 28 days of age ($p > 0.05$). Crypt depth and its relationship with villus length in the duodenum and jejunum were significantly influenced by the administration of the actinomycetes consortium compared to the group that received a basal diet ($p < 0.05$), being statistically similar to the rest of the treated groups ($p > 0.05$) at 21 days of age. The relative weight of the organs was not influenced by the treatments at 21 days of age ($p > 0.05$), while the relative weight of the spleen was statistically lower in the group supplemented with the actinomycetes consortium compared to the group treated with promoters of actinomycetes growth at 28 days of age ($p < 0.05$). The actinomycetes consortium improved the productive performance and intestinal integrity in a similar way to growth promoters and the commercial probiotic under evaluation, representing an alternative for its effective replacement in the feeding of broilers.

Key words: probiotics, *Actinomycetes*, broiler chickens, productive performance, intestinal integrity

INTRODUCCIÓN

En 2006 entró en vigor en la Comunidad Europea la normativa que prohíbe el uso de antibióticos promotores de crecimiento (APC) en la alimentación animal, con el fin de minimizar los riesgos sobre la salud del consumidor final (European Union, 2003). Ante esto, el sector avícola tuvo que implementar nuevas y mejores estrategias nutricionales y de control ambiental con el fin de reducir el impacto por el retiro de los APC en las parvadas (Da Costa *et al.*, 2011). Es así como, en la última década, se intensificó el interés por encontrar alternativas al uso de los APC como lo son los ácidos orgánicos, enzimas y fitogénicos (Mandey y Sompie, 2021); asimismo, en los últimos años se ha destacado el uso de probióticos o cepas de microorganismos benéficos para mejorar el desempeño productivo de las aves comerciales (Lee y Lillehoj, 2017).

Diferentes estudios muestran los efectos positivos de la administración de probióticos en la dieta de las aves sobre el rendimiento productivo, equilibrio de la microbiota intestinal, inmunoestimulación, síntesis de vitaminas, estimulación de enzimas digestivas, y protección frente a las toxinas de patógenos (Beski y Al-Sardary, 2015; Gao *et al.*, 2017). Además, se trata de microorganismos inocuos, cuyos residuos metabólicos en la carne de las aves no significan un peligro para el consumo humano (Díaz-López *et al.*, 2017). La selección de microorganismos candidatos cuyo comportamiento sea un indicador para su uso como potencial probiótico debe considerar criterios como el origen del hospedador, supervivencia bajo condiciones gástricas e intestinales, adherencia y colonización al epitelio intestinal, producción de sustancias antimicrobianas, seguridad, etc. (Markowiak y Slizewska, 2018).

Se han utilizado como probióticos diversas especies de microorganismos de los géneros *Lactobacillus*, *Streptococcus*,

Bacillus, *Bifidobacterium*, *Enterococcus*, *Pediococcus*, *Aspergillus*, *Candida* y *Saccharomyces*, cuyo mecanismo de acción genera un efecto beneficioso sobre el rendimiento de las aves (Mikulski *et al.*, 2012). Estos probióticos fermentan carbohidratos produciendo ácido láctico, acético y propiónico, provocando una disminución del pH en el intestino de las aves, logrando inhibir y controlar el crecimiento de enteropatógenos como *Echerichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Campylobacter jejuni*, *Listeria* sp y *Clostridium perfringens* (Murry *et al.*, 2004). Sin embargo, la exigencia de nutrientes de estas especies probióticas, la producción limitada de sustancias bioactivas y la escasa estabilidad de algunos de ellos, sumado a la aparición de enfermedades emergentes y evidencias de resistencia microbiana, hacen necesario la búsqueda de nuevos probióticos que mejoren las características de los existentes (Tan *et al.*, 2009).

Los actinomicetos son una de las familias de microorganismos más atractivas para la industria, debido a su capacidad de producir diversos y novedosos metabolitos secundarios. Aunque las *Bifidobacterias* han sido las actinobacterias más utilizadas como probiótico, especies de otros géneros como *Streptomyces*, *Rhodococcus*, *Nocardia* sp y *Oerskovia* también se emplean como probióticos (Latha *et al.*, 2016). Varios estudios sugieren que bacterias del género *Streptomyces* tienen efectos probióticos en la acuicultura mejorando la tasa de supervivencia, tasa de crecimiento, eficiencia de conversión alimenticia y previniendo infecciones intestinales (Aftabuddin *et al.*, 2013). Sin embargo, existe poca información sobre la aplicación de actinomicetos como potenciales probióticos para la avicultura. Siendo así, el objetivo del presente estudio fue determinar el efecto de una formulación probiótica a base de un consorcio de actinomicetos en el rendimiento productivo e integridad intestinal de pollos de carne criados en condiciones experimentales hasta los 28 días de edad.

MATERIALES Y MÉTODOS

Lugar de Estudio y Animales

El estudio se llevó a cabo en el Laboratorio de Investigación en Nutrición y Alimentación de Aves (LINAA) de la Facultad de Zootecnia en la Universidad Nacional Agraria La Molina (UNALM), Lima, Perú.

Se emplearon 320 pollos de la Línea Cobb 500, machos, de un día de edad. Las aves fueron distribuidas al azar en 4 tratamientos ($n=80$) con 8 repeticiones de 10 pollos cada uno. La duración del ensayo fue de 28 días. Las aves fueron alojadas en dos jaulas metálicas de malla galvanizada (baterías) de cuatro pisos cada una y con cuatro divisiones por piso, las cuales estuvieron provisionados con comederos lineales laterales y bebederos lineales frontales tipo canaleta en la parte externa, piso emparrillado de alambre galvanizado cubierto con malla y bandeja metálica para la recolección de excretas.

Tratamientos

Los tratamientos fueron: T1, dieta basal (sin antibióticos promotores de crecimiento); T2, dieta basal + Performance T 25® (Tilosina a dosis de 200 g/t) + Salinocarb® (Salinomicina-Nicarbazina a dosis de 500 g/t) (ambos productos de Ilender Perú S.A.); T3, dieta basal + Calsporin® (*Bacillus subtilis* a dosis de 100 g/t) (Calpis America Inc.) y T4, dieta basal + consorcio de actinomicetos pertenecientes al género *Streptomyces* (100 g/t). Las dietas cubrieron los requerimientos nutricionales de los pollos en todas las fases de su desarrollo. El alimento y el agua de bebida se suministraron a las aves *ad libitum*. Las dietas experimentales fueron formuladas siguiendo las especificaciones nutricionales de la Línea Cobb 500 (Cobb-Vantress, 2018). La composición y valor nutricional de las dietas basales se muestran en el Cuadro 1.

El ensayo se dividió en dos fases: la primera, fase de inicio, de 1 a 10 días de edad y la segunda, fase de crecimiento, a partir del día 11 de edad hasta el final del estudio; proporcionándose a ambas una dieta basal a base de maíz y soya, complementadas con aminoácidos sintéticos y suplementadas con una premezcla de vitaminas y minerales. Las dietas experimentales fueron elaboradas en la Planta Piloto de Alimentos Balanceados de la UNALM.

La formulación probiótica fue procesada en el Laboratorio de Microbiología de la Empresa Ilender Perú S.A. y administrada a una dosis de 100 gramos por tonelada de alimento balanceado, conteniendo aproximadamente 1×10^8 - 10^{10} UFC/g de un consorcio de actinomicetos pertenecientes al género *Streptomyces*, aislados del tracto digestivo de gallinas criollas criadas en libertad, los cuales se encuentran en evaluación. El probiótico comercial que contuvo la cepa de *Bacillus subtilis* fue administrado en la misma dosis en la dieta, conteniendo 1×10^{10} UFC/g. Los probióticos y antibióticos promotores de crecimiento fueron incluidos en la dieta durante todo el período experimental.

Mediciones

Parámetros productivos

- Peso vivo: El pesado de las aves se realizó el día de recepción y los días 7, 14, 21 y 28. El pesaje se hizo en forma grupal en jabs de plástico, utilizando una balanza digital de plataforma con precisión de 0.01 g.
- Ganancia de peso: La ganancia de peso semanal se obtuvo por la diferencia entre los pesos de una semana a otra, y la ganancia de peso acumulada estuvo representada por la diferencia entre el peso final y peso inicial.
- Consumo de alimento: Se pesó el residuo de alimento semanal en los comederos de cada jaula. Al peso del alimento adminis-

Cuadro 1. Composición nutricional de las dietas basales empleadas en el estudio

| Ingredientes | Inicio (0 - 10 días) | Crecimiento (11 - 28 días) |
|---|-------------------------|-------------------------------|
| Maíz nacional | 58.219 | 61.667 |
| Torta de soya | 34.114 | 30.792 |
| Aceite crudo de soya | 3.453 | 3.611 |
| Fosfato dicálcico | 1.711 | 1.580 |
| Carbonato de calcio | 0.883 | 0.837 |
| Sal común | 0.341 | 0.341 |
| DL-Metionina | 0.296 | 0.265 |
| HCl-Lisina | 0.213 | 0.192 |
| Bicarbonato de sodio | 0.180 | 0.180 |
| Premezcla vitamínico-mineral ¹ | 0.100 | 0.065 |
| Cloruro de colina, 60% | 0.100 | 0.100 |
| Secuestrante de micotoxinas | 0.250 | 0.250 |
| L-Treonina | 0.120 | 0.100 |
| Antioxidante | 0.020 | 0.020 |
| Total | 100.000 | 100.000 |
| Valor nutricional (calculado) | | |
| Energía metabolizable, Mcal/kg | 2,975.000 | 3,025.000 |
| Proteína cruda, % | 21.500 | 20.158 |
| Calcio, % | 0.900 | 0.840 |
| Fósforo disponible, % | 0.450 | 0.420 |
| Sodio, % | 0.200 | 0.200 |
| Lisina digestible, & | 1.220 | 1.120 |
| Metionina digestible, % | 0.605 | 0.559 |
| Met+Cis digestible, % | 0.910 | 0.850 |
| Treonina digestible, % | 0.830 | 0.730 |
| Triptófano digestible, % | 0.223 | 0.206 |
| Valina digestible, % | 0.906 | 0.850 |

¹ Contenido por kilogramo de producto: Vit. A: 12 000 000 UI; Vit. D3: 5 000 000 UI; Vit. E: 30 000 UI; Vit. K3: 3 g; Tiamina: 2 g; Riboflavina: 10 g; Piridoxina: 3 g; Vit. B12: 0.015 g; Ácido fólico: 2 g; Niacina: 30 g; Ácido pantoténico: 11 g; Biotina: 0.15 g; Zinc: 80 g; Hierro: 50 g; Manganeso: 80 g; Cobre: 12 g; Yodo: 1 g; Selenio: 0.30

trado durante la semana se le restó el peso del residuo de alimento, y el resultado se dividió entre el número de aves para obtener el consumo de alimento semanal y acumulado por ave.

- Índice de conversión alimenticia (ICA): El ICA semanal fue obtenido al dividir el alimento consumido semanal entre la ganancia de peso semanal y el ICA acumulado mediante el alimento consumido por cam-

pañá dividido por la ganancia de peso final.

- Mortalidad: Se registró la mortalidad diaria. Se realizó, además, la necropsia a todo animal que murió durante el estudio para determinar las causas de muerte.

Integridad intestinal

Se evaluó a nivel microscópico mediante histomorfometría. Se colectaron dos segmentos de 2 cm cada uno del intestino delgado por ave. El primer segmento a 2 cm de la salida del colédoco en el duodeno y el segundo en el yeyuno, a 8 cm antes del divertículo de Meckel. Las muestras fueron fijadas en frascos estériles con formol al 10% y remitidas a la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima. Las muestras fueron procesadas para el análisis histológico y los cortes fueron teñidos con hematoxilina-eosina (HxE) según procedimiento convencional. De cada segmento intestinal (duodeno y yeyuno) se realizaron un mínimo de 20 mediciones para determinar la longitud y ancho de las vellosidades, la profundidad de las criptas de Lieberkuhn y la relación entre longitud de vellosidad/profundidad de criptas. Se empleó un microscopio óptico de campo claro a 4X (Leica ICC50 W) y el programa LAS-EZ. Las medidas se expresaron en micras (μm). La longitud de las vellosidades se mide desde el área basal, coincidiendo con la porción superior de las criptas hasta su ápice. El ancho de las vellosidades fue medido en el punto medio de la longitud de estas y la profundidad de las criptas se mide desde la región basal de cada vellosidad hasta la parte basal superior de la musculatura lisa del intestino.

Peso relativo de órganos

Para el registro del peso de los órganos se tomó como muestra un ave por repetición por cada grupo experimental a los 21 y 28 días de edad. Los órganos fueron pesados en una balanza analítica con precisión de 0.01 g. El peso relativo del órgano fue expresado

como el porcentaje relativo al total del peso corporal del ave correspondiente. Los órganos medidos fueron bursa, bazo, timo, hígado, páncreas e intestino. Para el pesado del intestino se tomó en consideración la unión con la molleja hasta 1 cm antes de llegar a la unión ileocecal e incluyendo el contenido intestinal.

Análisis Estadístico

Se empleó un Diseño Completamente al Azar con cuatro tratamientos y diez repeticiones por tratamiento. Para determinar diferencias significativas en las variables productivas (peso vivo, ganancia de peso, consumo de alimento, conversión alimenticia, porcentaje de mortalidad e ICA), así como de la histomorfometría intestinal (longitud y ancho de vellosidades, y profundidad de criptas de Lieberkuhn) se utilizó el análisis de varianza y la comparación de medias mediante la prueba de Duncan. Las variables de la evaluación macroscópica de la integridad intestinal fueron realizadas mediante la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis. Los datos se analizaron mediante el programa estadístico R considerando un nivel de significancia del 5%.

RESULTADOS

El resultado del comportamiento productivo se presenta en el Cuadro 2. Los tratamientos T3 y T4 (suplementados con probióticos) mejoraron significativamente el ICA en comparación al grupo T1 (control no tratado) ($p < 0.05$) a los 14 días de edad, mientras que, no se observaron diferencias entre T3 y T4. Asimismo, T3 (dieta basal + *Bacillus subtilis*) mostró un mejor ICA respecto al T2 (dieta basal + tilosina + salinomicina / nicarbazina) ($p < 0.05$). Por otro lado, no hubo diferencias entre tratamientos con respecto al peso corporal, ganancia de peso acumulada, consumo de alimento acumulado y porcentaje de mortalidad.

Cuadro 2. Comportamiento productivo de pollos de carne¹ suplementados con probióticos o promotores de crecimiento hasta los 28 días de edad

| Tratamiento ² | Peso corporal (g) | Ganancia de peso acumulada (g) | Consumo de alimento acumulado (g) | Índice de conversión alimenticia (g/g) | Mortalidad (%) |
|--------------------------|-------------------|--------------------------------|-----------------------------------|--|----------------|
| Día 7 | | | | | |
| T1 | 205.9 ± 5 | 157.1 ± 5 | 192.6 ± 11 | 1.23 ± 0.09 | 1.3 ± 3 |
| T2 | 205.5 ± 5 | 156.2 ± 4 | 184.9 ± 12 | 1.18 ± 0.08 | 0.0 ± 0 |
| T3 | 204.4 ± 5 | 154.6 ± 4 | 183.9 ± 10 | 1.19 ± 0.06 | 0.0 ± 0 |
| T4 | 206.5 ± 6 | 156.8 ± 6 | 187.8 ± 80 | 1.20 ± 0.08 | 0.0 ± 0 |
| <i>P-value</i> | 0.8781 | 0.7959 | 0.3617 | 0.6758 | 0.4074 |
| Día 14 | | | | | |
| T1 | 535.9 ± 11 | 487.1 ± 11 | 636.6 ± 13 | 1.31 ± 0.03 ^a | 1.3 ± 3 |
| T2 | 531.7 ± 12 | 482.4 ± 12 | 623.0 ± 15 | 1.29 ± 0.04 ^{ab} | 0.0 ± 0 |
| T3 | 539.3 ± 13 | 489.6 ± 13 | 614.8 ± 19 | 1.26 ± 0.03 ^c | 1.3 ± 3 |
| T4 | 548.5 ± 12 | 498.7 ± 12 | 634.6 ± 21 | 1.27 ± 0.03 ^{bc} | 0.0 ± 0 |
| <i>P-value</i> | 0.0516 | 0.0716 | 0.0597 | 0.0148 | 0.5796 |
| Día 21 | | | | | |
| T1 | 1,091.4 ± 31 | 1,042.6 ± 30 | 1,427.7 ± 51 | 1.37 ± 0.04 | 2.5 ± 5 |
| T2 | 1,080.9 ± 21 | 1,031.7 ± 21 | 1,426.5 ± 28 | 1.38 ± 0.04 | 1.3 ± 3 |
| T3 | 1,082.9 ± 54 | 1,033.2 ± 55 | 1,426.6 ± 28 | 1.38 ± 0.07 | 1.3 ± 3 |
| T4 | 1,127.5 ± 27 | 1,077.7 ± 27 | 1,432.6 ± 32 | 1.33 ± 0.03 | 0.0 ± 0 |
| <i>P-value</i> | 0.0502 | 0.0508 | 0.9844 | 0.1090 | 0.5496 |
| Día 28 | | | | | |
| T1 | 1,635.3 ± 46 | 1,586.5 ± 46 | 2,255.1 ± 40 | 1.42 ± 0.03 | 2.5 ± 5 |
| T2 | 1,628.1 ± 28 | 1,578.8 ± 27 | 2,288.1 ± 56 | 1.45 ± 0.03 | 1.3 ± 3 |
| T3 | 1,641.0 ± 17 | 1,591.3 ± 17 | 2,317.9 ± 90 | 1.46 ± 0.07 | 1.3 ± 3 |
| T4 | 1,668.7 ± 25 | 1,619.0 ± 25 | 2,291.7 ± 44 | 1.42 ± 0.03 | 0.0 ± 0 |
| <i>P-value</i> | 0.0666 | 0.0683 | 0.2536 | 0.1683 | 0.5496 |

¹ Valores son promedio +/- desviación estándar de ocho repeticiones por tratamiento.

² T1: dieta basal (sin promotores de crecimiento); T2: dieta basal + tilosina + salinomicina / nicarbazina; T3: dieta basal + *Bacillus subtilis*; T4: dieta basal + consorcio de actinomicetos

^{a,b,c} Superíndices diferentes dentro de columnas indican diferencias estadísticas ($p < 0.05$)

No hubo diferencias en las variables productivas a los 21 días de edad por efecto de los tratamientos, aunque se puede resaltar que el grupo T4 (dieta basal + consorcio de actinomicetos) mostró una tendencia no significativa desde los 7 días de edad a presentar una mejor ICA. Por otro lado, los trata-

mientos no afectaron el comportamiento productivo a los 7 y 28 días de edad.

En el Cuadro 3 se presenta el efecto de los tratamientos dietarios sobre la morfometría intestinal (longitud y ancho de vellosidad, profundidad de cripta y la relación longitud de

Cuadro 3. Morfometría de duodeno y yeyuno en pollos de carne¹ suplementados con probióticos o promotores de crecimiento a los 21 y 28 días de edad

| Variable | Tratamiento ² | | | | <i>p</i> -value |
|---------------------------------|--------------------------|-------------------------|-------------------------|--------------------------|-----------------|
| | T1 | T2 | T3 | T4 | |
| 21 días | | | | | |
| <i>Duodeno</i> | | | | | |
| Longitud de vellosidad (L) (µm) | 1,716.1 ± 32 | 1,775.3 ± 81 | 1,685.5 ± 17 | 1,737.2 ± 11 | 0.8193 |
| Ancho de vellosidad (µm) | 154.9 ± 15 | 154.4 ± 13 | 157.4 ± 18 | 143.2 ± 40 | 0.1899 |
| Profundidad de cripta (PC) (µm) | 289.4 ± 28 ^a | 252.3 ± 13 ^b | 231.7 ± 16 ^b | 251.3 ± 18 ^b | <0.0001 |
| Relación L:PC | 5.94 ± 1.1 ^b | 7.04 ± 0.2 ^a | 7.28 ± 0.7 ^a | 6.92 ± 0.3 ^a | 0.0020 |
| <i>Yeyuno</i> | | | | | |
| Longitud de vellosidad (L) (µm) | 1,147.2 ± 17 | 1,193.0 ± 22 | 1,147.3 ± 18 | 1,177.6 ± 99 | 0.9361 |
| Ancho de vellosidad (µm) | 145.7 ± 13 | 146.4 ± 17 | 152.0 ± 70 | 138.3 ± 80 | 0.1818 |
| Profundidad de cripta (PC) (µm) | 271.5 ± 44 ^a | 221.9 ± 29 ^b | 212.9 ± 18 ^b | 229.2 ± 28 ^b | 0.0040 |
| Relación L:PC | 4.28 ± 0.7 ^b | 5.36 ± 0.6 ^a | 5.36 ± 0.4 ^a | 5.19 ± 0.6 ^a | 0.0022 |
| 28 días | | | | | |
| <i>Duodeno</i> | | | | | |
| Longitud de vellosidad (L) (µm) | 1,935.5 ± 21 | 1,951.1 ± 11 | 1,961.1 ± 71 | 1,983.0 ± 16 | 0.9305 |
| Ancho de vellosidad (µm) | 174.3 ± 10 | 177.8 ± 22 | 163.8 ± 15 | 168.6 ± 14 | 0.3109 |
| Profundidad de cripta (PC) (µm) | 320.6 ± 17 | 309.4 ± 34 | 281.4 ± 25 | 307.7 ± 34 | 0.0624 |
| Relación L:PC | 6.03 ± 0.5 ^b | 6.35 ± 0.6 ^b | 7.01 ± 0.5 ^a | 6.48 ± 0.6 ^{ab} | 0.0086 |
| <i>Yeyuno</i> | | | | | |
| Longitud de vellosidad (L) (µm) | 1,293.4 ± 12 | 1,263.1 ± 20 | 1,134.0 ± 15 | 1,354.4 ± 14 | 0.0512 |
| Ancho de vellosidad (µm) | 163.8 ± 18 | 155.9 ± 17 | 160.9 ± 17 | 159.7 ± 13 | 0.8111 |
| Profundidad de cripta (PC) (µm) | 267.6 ± 34 ^a | 273.9 ± 50 ^a | 231.3 ± 29 ^b | 288.4 ± 19 ^a | 0.0180 |
| Relación L:PC | 4.87 ± 0.5 | 4.65 ± 0.6 | 4.92 ± 0.5 | 4.70 ± 0.4 | 0.6602 |

¹ Valores son promedio +/- desviación estándar de ocho repeticiones por tratamiento.

² T1: dieta basal (sin promotores de crecimiento); T2: dieta basal + tilosina + salinomycin / nicarbazina; T3: dieta basal + *Bacillus subtilis*; T4: dieta basal + consorcio de actinomicetos

^{a,b,c} Superíndices diferentes dentro de columnas indican diferencias estadísticas (p<0.05)

Cuadro 4. Peso relativo de órganos (%) en pollos de carne¹ suplementados con probióticos o promotores de crecimiento a los 21 y 28 días de edad

| Tratamiento ² | Hígado | Intestino | Páncreas | Bazo | Timo | Bursa |
|--------------------------|-------------|-------------|-------------|---------------------------|-------------|-------------|
| Día 21 | | | | | | |
| T1 | 2.51 ± 0.19 | 6.53 ± 1.11 | 0.31 ± 0.05 | 0.09 ± 0.02 | 0.55 ± 0.17 | 0.19 ± 0.03 |
| T2 | 2.63 ± 0.38 | 6.47 ± 0.86 | 0.31 ± 0.04 | 0.10 ± 0.01 | 0.54 ± 0.10 | 0.23 ± 0.08 |
| T3 | 2.71 ± 0.29 | 6.89 ± 0.74 | 0.33 ± 0.04 | 0.10 ± 0.02 | 0.50 ± 0.13 | 0.21 ± 0.04 |
| T4 | 2.42 ± 0.16 | 6.80 ± 1.30 | 0.31 ± 0.04 | 0.11 ± 0.02 | 0.53 ± 0.09 | 0.20 ± 0.03 |
| <i>P-value</i> | 0.1590 | 0.8062 | 0.8185 | 0.1411 | 0.8820 | 0.4946 |
| Día 28 | | | | | | |
| T1 | 2.32 ± 0.55 | 6.03 ± 1.39 | 0.26 ± 0.07 | 0.10 ± 0.02 ^b | 0.52 ± 0.23 | 0.21 ± 0.07 |
| T2 | 2.22 ± 0.22 | 5.76 ± 1.07 | 0.26 ± 0.05 | 0.13 ± 0.02 ^a | 0.51 ± 0.11 | 0.17 ± 0.04 |
| T3 | 2.00 ± 0.24 | 5.95 ± 0.89 | 0.25 ± 0.04 | 0.12 ± 0.02 ^{ab} | 0.51 ± 0.09 | 0.20 ± 0.04 |
| T4 | 2.09 ± 0.29 | 5.76 ± 1.36 | 0.23 ± 0.06 | 0.10 ± 0.01 ^b | 0.43 ± 0.12 | 0.23 ± 0.07 |
| <i>P-value</i> | 0.2908 | 0.9565 | 0.6325 | 0.0209 | 0.6259 | 0.2613 |

¹ Valores son promedio +/- desviación estándar de ocho repeticiones por tratamiento.

² T1: dieta basal (sin promotores de crecimiento); T2: dieta basal + tilosina + salinomicina / nicarbazina; T3: dieta basal + *Bacillus subtilis*; T4: dieta basal + consorcio de actinomicetos

^{a,b,c} Superíndices diferentes dentro de columnas indican diferencias estadísticas (p<0.05)

vellosidad: profundidad de cripta) en duodeno y yeyuno evaluados a los 21 y 28 días de edad.

A los 21 días de edad, la Profundidad de cripta (PC) y la relación Longitud de vellosidad / Profundidad de cripta (L:PC) en duodeno y yeyuno de los grupos tratados fueron significativamente diferentes al grupo control (p<0.05). Los valores más bajos de PC correspondieron a los grupos T2, T3 y T4 en comparación con el grupo T1 control (p<0.05). Por otro lado, T2, T3 y T4 presentaron los mayores valores para la relación L:PC en comparación con el grupo control (p<0.05). A los 28 días, los mayores valores de L:PC en el duodeno correspondió a los grupos T3 y T4, pero solo T3 fue significativamente diferente a T1 y T2. Por otro lado, el valor más bajo de PC en el yeyuno correspondió al grupo T3 (p<0.05).

Los valores promedios de la longitud y ancho de vellosidad en el duodeno y yeyuno a los 21 y 28 días, la PC (en la porción del duodeno), y la relación L:PC (en la porción del yeyuno) a los 28 días de edad no fueron influenciados por los tratamientos administrados en las dietas (p>0.05).

No hubo diferencias significativas para los pesos relativos de los diferentes órganos entre tratamientos a los 21 y 28 días de edad de las aves (Cuadro 4), con excepción del peso relativo del bazo, que fue significativamente menor en los grupos T1 y T4 frente al grupo T2 (p<0.05).

DISCUSIÓN

El peso vivo a los 28 días de edad y la ganancia de peso fueron similares entre los tratamientos. En forma similar, la conversión

alimenticia no se vio influenciada por los grupos experimentales a los 7, 21 y 28 días de edad (Cuadro 2). Resultados sobre el rendimiento productivo de pollos de carne empleando actinomicetos no han sido reportados; sin embargo, existen referencias en el uso de otros géneros de bacterias probióticas que guardan relación con los resultados del presente estudio. Al respecto, Olnood *et al.* (2015) incluyeron cepas probióticas de *Lactobacillus* en la dieta de pollos criados en baterías sin encontrar diferencias significativas para peso vivo y ganancia de peso en comparación con un grupo tratado con zinc bacitracina (50 mg/kg) y un grupo control no suplementado. Del mismo modo, Gunal *et al.* (2006) tampoco encontraron mejoras en ganancia de peso, consumo de alimento y conversión alimenticia de pollos de carne criados en baterías hasta los 42 días por la adición en la dieta al 0.1% de un consorcio de cepas probióticas (*Lactobacillus* spp, *Streptococcus thermophilus*, *Aspergillus orizea*, *Bifidobacterium bifidum*, *Enterococcus faecium* y *Candida pintolepsii*) en comparación al grupo tratado con flavomicina al 0.1% y un grupo control con dieta basal. Hallazgos similares también han sido reportados empleando diferentes cepas probióticas y bajo diversas condiciones experimentales (Fernandes *et al.*, 2014; Abudabos *et al.*, 2017; He *et al.*, 2019).

El consumo de alimento no se vio influenciado por la adición de los probióticos en la dieta (Cuadro 2). Este resultado concuerda con los obtenidos por Wang *et al.* (2016) al incluir en la dieta cepas de *Bacillus subtilis* (3×10^5 UFC/g) frente al grupo control no suplementado y al grupo tratado con antimicrobianos comerciales, así como con el estudio de Kazemi *et al.* (2019), quienes suplementaron dos consorcios que contenían especies bacterianas de los géneros *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Enterococcus*, *Streptococcus*, *Pediococcus* y *Bacillus*, entre otros, frente a los grupos controles y tratados con avilamicina (150 g/t).

En el presente estudio tampoco se encontró diferencias significativas en mortalidad entre tratamientos (Cuadro 2), al igual que otros autores (Gunal *et al.*, 2006; Stęczyński y Kokoszyński, 2020); sin embargo, son varios los estudios que han encontrado una influencia positiva en el control y reducción de la mortalidad por uso de probióticos (Huang *et al.*, 2018; Menconi *et al.*, 2020), relacionando este efecto con un posible mecanismo modulador de la microbiota intestinal y estimulación del sistema inmunológico en las aves.

En contraste con los hallazgos anteriores, los efectos benéficos del uso de probióticos en la dieta de pollos de carne sobre diferentes variables productivas han sido reportados. Así, Sen *et al.* (2012) encontraron una mejora significativa de la ganancia de peso, consumo de alimento y conversión alimenticia administrando 0.30 y 0.45% de una cepa de *Bacillus subtilis* en la dieta. Asimismo, Song *et al.* (2014) obtuvieron mejores ganancias de peso en pollos de engorde sometidos a condiciones de estrés calórico con una mezcla probiótica que contenía *Bacillus licheniformis*, *Bacillus subtilis* y *Lactobacillus plantarum* (1.5 g/kg). Entre los mecanismos bajo los cuales los probióticos ejercerían este efecto se encuentra la exclusión competitiva y modulación de la microbiota, incremento en el tamaño de las vellosidades intestinales, mantenimiento de la integridad de la barrera intestinal, estimulación del sistema inmune y secreción de mucina (Song *et al.*, 2014; Beski y Al-Sardary, 2015).

Los rendimientos productivos similares entre los tratamientos evaluados podrían estar asociados a las condiciones medioambientales controladas. Se ha descrito que aves sanas alojadas en condiciones controladas, con una densidad adecuada y bien alimentadas no responden positivamente en términos productivos cuando se emplean promotores de crecimiento antibiótico, probióticos, ácidos orgánicos o fitogénicos frente a los grupos no tratados (Shiva *et al.*, 2012; Olnood *et al.*,

2015). Por otro lado, en este estudio, la concentración del consorcio de actinomicetos fue alrededor de 10^8 - 10^{10} UFC/g, tasa de inclusión recomendada convencionalmente para aditivos probióticos comerciales en la dieta (10^8 UFC/g de producto). Es posible que concentraciones más altas del candidato a probiótico pueda ejercer una respuesta positiva más significativa sobre el crecimiento, especialmente si la presión de infección por bacterias patógenas, como *Clostridium perfringens*, es alta, aspecto que debe investigarse en futuros estudios.

El aumento de la longitud de las vellosidades significa un incremento en la función digestiva y una mayor absorción de nutrientes en el intestino debido al aumento de la superficie de absorción, lo que, consecuentemente, tiene un efecto beneficioso sobre el rendimiento productivo (Jamroz *et al.*, 2005). Sin embargo, en el presente estudio no se encontraron diferencias significativas entre los grupos evaluados para la longitud de las vellosidades a nivel del duodeno y yeyuno (Cuadro 3), resultado similar al reportado por Shokryazdan *et al.* (2017), De Souza *et al.* (2018) y Li *et al.* (2019). No obstante, Gunal *et al.* (2006), al suplementar una mezcla de probióticos, y Forte *et al.* (2018) suplementando probióticos a base de *Lactobacillus acidophilus* D2/CSL incrementaron significativamente la longitud de las vellosidades en yeyuno e íleon a los 21 días de edad y en íleon a los 42 días de edad, respectivamente, en comparación con los grupos control. Asimismo, Calik *et al.* (2019) y Gorozabel *et al.* (2020) encontraron un incremento significativo en la longitud de las vellosidades en aves suplementadas con probióticos tanto en el alimento como en el agua de bebida respecto a los controles no tratados.

Awad *et al.* (2009) indicaron que el incremento en el ancho de la vellosidad se relaciona a una menor hiperplasia a nivel de células caliciformes y enterocitos, mejorando el sistema de absorción en el epitelio de revestimiento, pasando el nutriente directa-

mente hacia la lámina propia, zona en donde se encuentran los capilares; sin embargo, esto no fue observado en el estudio (Cuadro 3).

La administración del consorcio de actinomicetos en la dieta disminuyó significativamente la profundidad de las criptas en duodeno y yeyuno a los 21 días de edad en comparación con el grupo control con una dieta basal (Cuadro 3), tal y como fue reportado por Chávez *et al.* (2016), quienes suplementaron con una cepa probiótica de *Enterococcus faecium* en el agua de bebida, así como con cepas probióticas de *Lactobacillus acidophilus* y *Lactobacillus casei* durante los 42 días de crianza. De manera similar, Al-Sultan *et al.* (2016) también registraron que la administración de probióticos disminuyó la profundidad de las criptas significativamente a los 42 días de edad en las diferentes secciones del intestino en comparación con el grupo suplementado con una dieta basal. En contraste, De Souza *et al.* (2018), Calik *et al.* (2019) y Gorozabel *et al.* (2020) reportaron que las aves suplementadas con diferentes cepas probióticas (*Lactobacillus acidophilus*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus amyloliquefaciens*) incrementaron la profundidad de cripta en duodeno y yeyuno en comparación al grupo control, con o sin presencia de desafío con especies de *Eimerias*.

Una mayor profundidad de cripta es el resultado de un incremento en la actividad proliferativa celular para garantizar una adecuada reposición de células en la región apical de las vellosidades. Este evento puede suceder por un acortamiento de las vellosidades y las criptas más profundas pueden provocar una mala absorción de nutrientes, un aumento de la secreción en el tracto gastrointestinal y, por ende, un menor rendimiento productivo (Xu *et al.*, 2003). En este sentido, cabe resaltar una posible relación entre una menor profundidad de criptas y los mejores resultados numéricos en peso promedio a los 21 días de edad de las aves suplementadas con el consorcio de actinomicetos.

Los grupos que recibieron algún aditivo en la dieta, incluyendo el grupo que recibió el consorcio de actinomicetos, aumentaron significativamente la relación entre la longitud de las vellosidades y la profundidad de la cripta (L: PC) en ambas porciones intestinales a los 21 días y en duodeno a los 28 días de edad de las aves, en comparación con el grupo control no tratado (Cuadro 3). En los estudios realizados por Shokryazdan *et al.* (2017) y Li *et al.* (2019) se reportaron resultados similares, encontrándose un incremento en la relación L: PC en yeyuno a los 21 y 42 días de edad en pollos de engorde al ser suplementados con cepas de *Lactobacillus salivarius* y *Bacillus spp* frente a un grupo control con dieta basal, respectivamente. En contraste con lo anterior, existen estudios donde fue observada la ausencia de un efecto sobre la relación L: PC por el uso de probióticos. Hung *et al.* (2012), De Souza *et al.* (2018) y Kazemi *et al.* (2019) no encontraron diferencias significativas entre grupos con y sin adición de probióticos para la relación L: PC a la misma edad. El índice intestinal está asociado a la eficiencia de crecimiento y la superficie de absorción de nutrientes; por lo tanto, un bajo índice intestinal indicaría una mayor tasa de renovación celular, pero insuficiente para incrementar el tamaño de las vellosidades (Awad *et al.* 2009; Clevers, 2013).

Una explicación para la respuesta similar observada entre el grupo tratado con el consorcio de actinomicetos y los otros grupos evaluados sobre la profundidad de criptas y la relación L:PC en ambas porciones intestinales a los 28 días, es que, posiblemente a esta edad, se llegó a establecer una adecuada inmunidad en las aves, la cual ayudó a controlar el daño en la mucosa intestinal reduciendo las diferencias que fueron observadas a los 21 días para estas variables, donde, un cuadro inflamatorio causado por patógenos o toxinas, pudieron tener un impacto negativo importante sobre el grupo control no tratado como consecuencia de un desequilibrio en el recambio celular intestinal provocando un incremento en la renovación de células epiteliales.

La inclusión de microorganismos probióticos en la dieta de pollos de engorde permite el rápido desarrollo de las bacterias benéficas en el tracto digestivo (Alkhalif *et al.*, 2010). De igual manera, se ha asociado un mayor peso relativo de los órganos linfoides con una mayor competencia de la respuesta inmune (Gore y Qureshi, 1997). De acuerdo con Torshizi *et al.* (2010), el peso relativo del bazo y la bursa fue influenciado positivamente por la administración de probióticos en comparación con el grupo control a los 42 días de edad, resultado que se relacionó con una mejor ganancia de peso y conversión alimenticia al finalizar el estudio. Por otro lado, Gorozabel *et al.* (2020) encontraron un mayor valor de peso relativo del hígado en aves que recibieron *Lactobacillus spp* en el agua de bebida.

Lo anteriormente descrito, contrasta con lo observado en el estudio, ya que, los grupos suplementados con el consorcio de actinomicetos no afectaron significativamente los pesos relativos de los órganos evaluados a los 21 y 28 días de edad. Al culminar el estudio, el peso relativo del bazo en el grupo tratado con promotores antibióticos fue significativamente mayor en comparación al grupo control y al grupo suplementado con el consorcio de actinomicetos (Cuadro 4), aunque no hubo relación con el rendimiento productivo, ya que los tratamientos evaluados fueron similares entre sí. Este resultado concuerda con los hallazgos reportados por Willis y Reid (2008) y Jwher *et al.* (2013) quienes evaluaron los efectos de una mezcla de cepas de *Lactobacillus* sobre el peso relativo de hígado, bazo, páncreas y bursa de Fabricio sin encontrar diferencias significativas al ser comparados con un grupo control a diferentes edades. De igual forma, Arencibia *et al.* (2019) tampoco reportaron diferencias significativas entre un grupo de aves que fueron alimentadas con *Streptomyces* RL8 y un grupo control no tratado para el peso relativo del hígado, bazo e intestino en pollos de 21 días de edad.

CONCLUSIONES

- Los resultados demostraron que el consorcio de actinomicetos no tiene efecto negativo sobre las variables productivas y tuvo un efecto sobre el rendimiento productivo similar al obtenido con un probiótico comercial y un promotor de crecimiento.
- La adición del consorcio de actinomicetos en la dieta tuvo efecto positivo sobre la integridad intestinal al presentar una mejora en la profundidad de cripta y la relación entre la longitud de vellosidad: profundidad de cripta en duodeno y yeyuno a los 21 días de edad, obteniendo resultados similares respecto al resto de grupos que recibieron algún tipo de tratamiento, mientras que no presentó efecto alguno sobre el peso relativo de los órganos entre los grupos evaluados.
- El consorcio de actinomicetos representa una potencial alternativa para reemplazar eficazmente a probióticos y los promotores de crecimiento de tipo antibióticos en la alimentación de las aves.

Agradecimientos

Los autores agradecen a PROCENCIA dependiente del Consejo Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación Tecnológica (CONCYTEC) por el cofinanciamiento del presente estudio (Convenio N° 148-2017-FONDECYT).

LITERATURA CITADA

1. **Abudabos AM, Alyemni AH, Dafalla YM, Khan RU. 2017.** Effect of organic acid blend and *Bacillus subtilis* alone or in combination on growth traits, blood biochemical and antioxidant status in broilers exposed to *Salmonella typhimurium* challenge during the starter phase. *J Appl Anim Res* 45: 538-542. doi: 10.1080/09712119.2016.1219665
2. **Aftabuddin S, Kashem MA, Kader MA, Sikder MNA, Hakim MA. 2013.** Use of *Streptomyces fradiae* and *Bacillus megaterium* as probiotics in the experimental culture of tiger shrimp *Penaeus monodon* (Crustacea, Penaeidae). *Aquac Aquar Conserv Legis* 6: 253-267.
3. **Alkhalf A, Alhaj M and Al-Homidan I. 2010.** Influence of probiotic supplementation on blood parameters and growth performance in broiler chickens. *Saudi J Biol Sci* 17: 219-225. doi: 10.1016/j.sjbs.2010.04.005
4. **Al-Sultan S, Abdel-Raheem S, El-Ghareeb W, Mohamed M. 2016.** Comparative effects of using prebiotic, probiotic, symbiotic and acidifier on growth performance, intestinal microbiology and histomorphology of broiler chicks. *Jpn J Vet Res* 64: S187-S195.
5. **Arencibia YM, Marrero RM, Bernal MG, Parra MG, Santana RC, Díaz MD, Fexas MA. 2019.** Utilización de *Streptomyces* sp R18 como agente probiótico en pollos de la raza Leghorn. *Biologist* 17: 107-116. doi: 10.24039/rtb2019171296
6. **Awad WA, Ghareeb K, Abdel-Raheem S, Böhm J. 2009.** Effects of dietary inclusion of probiotic and symbiotic on growth performance, organ weights, and intestinal histomorphology of broiler chickens. *Poultry Sci* 88: 49-55. doi: 10.3382/ps.2008-00244
7. **Beski SSM, Al-Sardary SYT. 2015.** Effects of dietary supplementation of probiotic and synbiotic on broiler chickens hematology and intestinal integrity. *Int J Poult Sci* 14: 31-36. doi: 10.3923/ijps.-2015.31.36
8. **Calik A, Omara II, White MB, Li W, Dalloul RA. 2019.** Effects of dietary direct fed microbial supplementation on performance, intestinal morphology and immune response of broiler chickens challenged with coccidiosis. *Front Vet Sci* 6: 463. doi: 10.3389/fvets.2019.00463

9. **Chávez L, López A, Parra J. 2016.** Crecimiento y desarrollo intestinal de aves de engorde alimentadas con cepas probióticas. *Arch Zootec* 65: 51-58.
10. **Clevers H. 2013.** The intestinal crypt, a prototype stem cell compartment. *Cell* 154: 274-284. doi: 10.1016/j.cell.2013.-07.004
11. **Cobb-Vantress. 2018.** Suplemento informativo sobre rendimiento y nutrición de pollos de engorde. [Internet]. Disponible en: <https://www.cobb-vantress.com/assets/Cobb-Files/c8850f8e02/6998d7c0-12d1-11e9-9c88-c51e407c-53ab.pdf>
12. **Da Costa PM, Oliveira M, Ramos B, Bernardo F. 2011.** The impact of antimicrobial use in broiler chickens on growth performance and on the occurrence of antimicrobial-resistant *Escherichia coli*. *Livest Sci* 136: 262-269. doi: 10.1016/j.livsci.2010.09.016
13. **De Souza LF, Araújo DN, Stefani LM, Giometti IC, Cruz-Polycarpo VC, Polycarpo G, Burbarelli MF. 2018.** Probiotics on performance, intestinal morphology and carcass characteristics of broiler chickens raised with lower or higher environmental challenge. *Austral J Vet Sci* 50: 35-41. doi: 10.4067/S0719-81322018000100107
14. **Díaz-López EA, Ángel-Isaza J, Ángel D. 2017.** Probióticos en la avicultura: una revisión. *Rev Med Vet* 1: 175-189.
15. **European Union. 2003. Regulation EC N° 1831/2003** of the European Parliament and of the Council of 22 September 2003 on additives for use in animal nutrition. *Off Eur Union L* 268: 29-43.
16. **Fernandes BC, Martins MR, Mendes AA, Milbradt EL, Sanfelice C, Martins BB, Bresne C. 2014.** Intestinal integrity and performance of broiler chickens fed a probiotic, a prebiotic, or an organic acid. *Braz J Poult Sci* 16: 417-424. doi: 10.1590/1516-635X1604417-424
17. **Forte C, Manuali E, Abbate Y, Papa P, Vieceli L, Tentellini M, & Moscati L. 2018.** Dietary *Lactobacillus acidophilus* positively influences growth performance, gut morphology, and gut microbiology in rurally reared chickens. *Poultry Sci* 97: 930-936. doi: 10.3382/ps/pex396
18. **Gao P, Ma C, Sun Z, Wang L, Huang S, Su X, Zhang H. 2017.** Feed-additive probiotics accelerate yet antibiotics delay intestinal microbiota maturation in broiler chicken. *Microbiome* 5: 1-14.
19. **Gore AB, Qureshi MA. 1997.** Enhancement of humoral and cellular immunity by vitamin E after embryonic exposure. *Poultry Sci* 76: 984-991. doi: 10.1093/ps/76.7.984
20. **Gorozabel BE, Solórzano MV, Nevárez GJ, Flor FG 2020.** Actividad probiótica de (*Lactobacillus* spp), y su incidencia en el desarrollo de los parámetros zootécnicos, alométricos y de la microbiota gastrointestinal en pollos broilers. *Rev Ecuat Cienc Anim* 4: 96-108.
21. **Gunal M, Yayli G, Kaya O, Karahan N, Sulak O. 2006.** The effects of antibiotic growth promoter, probiotic or organic acid supplementation on performance, intestinal microflora and tissue of broilers. *Int J Poult Sci* 5: 149-155. doi: 10.3923/ijps.2006.149.155
22. **He T, Long S, Mahfuz S, Wu D, Wang X, Wei X, Piao X. 2019.** Effects of probiotics as antibiotics substitutes on growth performance, serum biochemical parameters, intestinal morphology, and barrier function of broilers. *Animals* 9: 985. doi: 10.3390/ani9110985
23. **Huang L, Luo L, Zhang Y, Wang Z, Xia Z. 2018.** Effects of the dietary probiotic, *Enterococcus faecium* NCIMB11181, on the intestinal barrier and system immune status in *Escherichia coli* O78-challenged broiler chickens. *Probiotics Antimicro* 11: 946-956. doi: 10.1007/s12602-018-9434-7

24. **Hung AT, Lin SY, Yang TY, Chou CK, Liu HC, Lu JJ, Lien TF. 2012.** Effects of *Bacillus coagulans* ATCC 7050 on growth performance, intestinal morphology, and microflora composition in broiler chickens. *Anim Prod Sci* 52: 874-879. doi: 10.1016/j.psj.2021.101168
25. **Jamroz D, Wiliczekiewicz A, Wertelecki T, Orda J, Skorupinska J. 2005.** Use of active substances of plant origin in chicken diets based on maize and locally grown cereals. *Brit Poultry Sci* 46: 485-493. doi: 10.1080/00071660500191056
26. **Jwher DM, Abd SK, Mohammad AG. 2013.** The study of using effective microorganisms (EM) on health and performance of broiler chicks. *Iraq J Vet Sci* 27: 73-78.
27. **Kazemi SA, Ahmadi H, Torshizi MA. 2019.** Evaluating two multistrain probiotics on growth performance, intestinal morphology, lipid oxidation and ileal microflora in chickens. *J Anim Physiol Anim Nutr* 103: 1399-1407. doi: 10.1111/jpn.13124
28. **Latha S, Vinothini G, Calvin DJD, Dhanasekaran D. 2016.** *In vitro* probiotic profile-based selection of indigenous actinobacterial probiont *Streptomyces* sp JD9 for enhanced broiler production. *J Biosci Bioeng* 121: 124-131.
29. **Lee KW, Lillehoj HS. 2017.** An update on direct-fed microbials in broiler chickens in post-antibiotic era. *Anim Prod Sci* 57: 1575-1581.
30. **Li CL, Wang J, Zhang HJ, Wu SG, Hui QR, Yang CB, Qi GH. 2019.** Intestinal morphologic and microbiota responses to dietary *Bacillus* spp in a broiler chicken model. *Front Physiol* 9: 1968. doi: 10.3389/fphys.2018.01968
31. **Mandey JS, Sompie FN. 2021.** Phytogetic feed additives as an alternative to antibiotic growth promoters in poultry nutrition. In: Babinszky L, Oliveira J, Santos EM (eds). *Advanced studies in the 21st century animal nutrition*. IntechOpen. doi: 10.5772/intechopen.99401
32. **Markowiak P, Œelżewska K. 2018.** The role of probiotics, prebiotics and synbiotics in animal nutrition. *Gut pathog* 10: 1-20. doi: 10.1186/s13099-018-0250-0
33. **Menconi A, Sokale AO, Mendoza SM, Whelan R, Doranalli K. 2020.** Effect of *Bacillus subtilis* DSM 32315 under different necrotic enteritis models in broiler chickens: a meta-analysis of five independent research trials. *Avian Dis* 64: 379-385. doi: 10.1637/aviandiseases-D-19-00116
34. **Mikulski D, Jankowski J, Naczmanski J, Mikulska M, Demey V. 2012.** Effects of dietary probiotic (*Pediococcus acidilactici*) supplementation on performance, nutrient digestibility, egg traits, egg yolk cholesterol, and fatty acid profile in laying hens. *Poultry Sci* 91: 2691-2700. doi: 10.3382/ps.2012-02370
35. **Murry AC, Hinton A, Morrison H. 2004.** Inhibition of growth of *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, and *Clostridium perfringens* on chicken feed media by *Lactobacillus salivarius* and *Lactobacillus plantarum*. *Int J Poult Sci* 3: 603-607. doi: 10.3923/ijps.2004.603.607
36. **Olnood CG, Beski SS, Choct M, Iji PA. 2015.** Novel probiotics: their effects on growth performance, gut development, microbial community and activity of broiler chickens. *Anim Nutr* 1: 184-191. doi: 10.1016/j.aninu.2015.07.003
37. **Sen S, Ingale SL, Kim YW, Kim JS, Kim KH, Lohakare JD, Chae BJ. 2012.** Effect of supplementation of *Bacillus subtilis* LS 1-2 to broiler diets on growth performance, nutrient retention, caecal microbiology and small intestinal morphology. *Res Vet Sci* 93: 264-268. doi: 10.1016/j.rvsc.2011.05.021
38. **Shiva C, Bernal S, Sauvain M, Caldas J, Kalinowski J, Falcón N, Rojas R. 2012.** Evaluación del aceite esencial de orégano (*Origanum vulgare*) y extracto deshidratado de jengibre (*Zingiber officinale*) como potenciales promotores de crecimiento en pollos de engorde.

- Rev Inv Vet Perú 23: 160-170. doi: 10.15381/rivep.v23i2.896
39. **Shokryazdan P, Faseleh Jahromi M, Liang JB, Ramasamy K, Siao CC, Ho YW. 2017.** Effects of a *Lactobacillus salivarius* mixture on performance, intestinal health and serum lipids of broiler chickens. Plos One 12: e0175959. doi: 10.1371/journal.pone.0175959
40. **Song J, Xiao K, Ke YL, Jiao LF, Hu CH, Diao QY, Zou XT. 2014.** Effect of a probiotic mixture on intestinal microflora, morphology, and barrier integrity of broilers subjected to heat stress. Poultry Sci 93: 581-588. doi: 10.3382/ps.2013-03455
41. **Stêczny K, Kokoszyński D. 2020.** Effect of probiotic preparations (EM) on productive characteristics, carcass composition, and microbial contamination in a commercial broiler chicken farm. Anim Biotechnol 32: 758-765. doi: 10.1080/10495398.2020.1754841
42. **Tan H, Deng Z, Cao L. 2009.** Isolation and characterization of actinomycetes from healthy goat faeces. Lett Appl Microbiol 49: 248-253. doi: 10.1111/j.1472-765X.2009.02649.x.
43. **Torshizi MAK, Moghaddam AR, Rahimi S, Mojjani N. 2010.** Assessing the effect of administering probiotics in water or as a feed supplement on broiler performance and immune response. Brit Poultry Sci 51: 178-184. doi: 10.1080/00071661003753756
44. **Wang X, Farnell YZ, Peebles ED, Kiess AS, Wamsley KG, Zhai W. 2016.** Effects of prebiotics, probiotics, and their combination on growth performance, small intestine morphology, and resident *Lactobacillus* of male broilers. Poultry Sci 95: 1332-1340. doi: 10.3382/ps/pew030
45. **Willis WL, Reid L. 2008.** Investigating the effects of dietary probiotic feeding regimens on broiler chicken production and *Campylobacter jejuni* presence. Poultry Sci 87: 606-611. doi: 10.3382/ps.2006-00458
46. **Xu ZR, Hu CH, Xia MS, Zhan XA, Wang MQ. 2003.** Effects of dietary fructooligosaccharide on digestive enzyme activities, intestinal microflora and morphology of male broilers. Poultry Sci 82: 1030-1036. doi: 10.1093/ps/82.6.1030