

“Año de la Diversificación Productiva y del Fortalecimiento de la Educación”

INFORME N° 08-2015/UNT-FCA-DASVPP-HASS.

A : Dr. OTINIANO HURTADO, MIRIAM NOEMI

Presidencia del CGICSC

De : Mg. Ing° Héctor Alfredo Sánchez Suarez
Docente

Asunto : INFORME BIMENSUAL FINAL

Referencia : resolución N° 0598-2014 UNT-CU, expediente N° 08481

Resolución Rectoral N° 0134-2015/UNT-R

Fecha : Tumbes, 21 de Octubre de 2015.

Es grato dirigirme a usted para saludarlo y detallar las diferentes actividades realizadas durante la ejecución del trabajo de investigación realizado por el suscrito en el transcurso. Noviembre 2014 y Octubre 2015

Titulo Titulo:” “Dietas Dosificadas con Microorganismos benéficos caracterizados por metagenómica y aislados del ensilado biológico de restos del procesamiento de langostino (*Litopenaeus vannamei*) en la productividad e incidencia de diarreas en la alimentación de lechones (*Sus escrofa domesticus*) Tumbes, Perú, 2014 – 2015.”,

Autor: I Mg. Ing. Héctor Alfredo Sánchez Suarez.

Asesor: PhD. Eric Mialhe INCABIOTEC

Alumno MV. Fredy Fabián Domínguez

Actividades realizadas

Cabe mencionar lo expresado en el informe 01-2014 Tumbes, 25 de Setiembre 2014 donde se sugiere la modificación de fecha del inicio del proyecto.

Y tener en cuenta los múltiples factores limitantes o distorsionantes presentados durante el proceso de la investigación que condicionaron en cierta forma el normal desarrollo del proyecto como:

1. Que se aprobó el presupuesto analítico para la ejecución del proyecto de investigación denominado, financiado con recursos del Canon y Sobre canon, mediante Resolución N° 0822-2014/UNT-R. fecha 17 de julio.
2. El día 14 de Agosto del presente año se presentó la solicitud de compras de reactivos químicos y equipamientos.
3. En el mes de noviembre de presente se nos ha atendido con material ya de mayor importancia en aproximadamente 50% para la ejecución de la investigación.
4. Se sugirió que para poder cumplir con los plazos establecidos de ejecución del proyecto es necesaria la atención con la compra de equipamiento: cámara de electroforesis horizontal, incubadora , congeladora -20°C y reactivos para el aislamiento de microorganismo benéficos a partir del ensilado biológico ; siendo los reactivos importados, estos serán atendidos en aproximadamente unos 60 días según comunicación verbal del señor trabajador de la Oficina General de abastecimiento, es decir aproximadamente la segunda semana de enero del 2015.
5. Los reactivos en mención son necesarios para poder iniciar ensayos preliminares de caracterización por metagenómica y aislados del ensilado biológico por lo tanto la demora en esto no nos permitirá cumplir con los plazos establecidos, aun habiéndose iniciado la ejecución del proyecto antes mencionado.
6. Para el mes de Noviembre se empezó a atender los requerimientos para lo cual se había manifestado que se había empezado algunas actividades del proyecto con material prestado.

INFORME EN FUNCION A LOS OBJETIVOS PLANTEADOS:

Objetivos del proyecto:

Objetivo general

Valorar dietas, usando tres niveles de inóculo de microorganismos cultivados, aislados y caracterizados mediante metagenómica del ensilado biológico de residuos (*Litopenaeus vannamei*), en dietas de preinicio e inicio para lechones (*Sus escrofa domesticus*).?

Objetivo específicos

1. Caracterizar metagenómica dirigida (ADN) la diversidad de microorganismos asociados al ensilado biológico de residuos (*Litopenaeus vannamei*),

A1: Extracción del ADN de las muestras de microorganismos colectadas para análisis genómico.

A2: Secuenciación metagenómica mediante Next Generation Sequencing (NGS).

A3: Análisis de las secuencias e identificación de las especies de los microorganismos de las muestras.

A4: Aislamiento, identificación y multiplicación de cepas de bacterias cultivables de las muestras colectadas.
2. Aislar cepas cultivables de microorganismos potencialmente benéficos del lechón asociados a la alimentación con ensilado biológico de residuos (*Litopenaeus vannamei*),
3. Determinar las características física de las excretas
4. Caracterizar la composición química de las dietas y las excretas de los tratamientos, utilizada en lechones (*Sus escrofa domesticus*), usando tres niveles 5%, 10% y 15%) de ensilado con el inóculo de 1%, 1.5% y 2% microorganismos cultivados, aislados y caracterizados mediante metagenómica, en ensilado biológico de residuos (*Litopenaeus vannamei*)
5. Valorar el incremento de peso vivo de los lechones (*Sus escrofa domesticus*), alimentados con dietas e inoculando niveles de 1%, 1.5% y 2% de microorganismos aislados y cultivados del tracto digestivo del lechón,
6. Estimar el consumo del alimento, la digestibilidad alimenticia, la conversión alimenticia y el mérito económico por los lechones (*Sus escrofa domesticus*), con los niveles de 5%, 10% y 15% de ensilado con inóculo de microorganismos cultivados, aislados y caracterizados mediante metagenómica del tracto digestivo del lechón.
7. Determinar los coliformes en heces de lechones lactantes durante las días 13 al 15 del nacimiento y la proporción de diarreas colibacilares durante el proceso de crianza tratados y no tratados.
8. Análisis de la microbiota del alimento, intestino del lechón y excretas,

Caracterizar mediante metagenómica dirigida (ADN) la diversidad de microorganismos (presencia y prevalencia de microorganismos benéficos y patógenos)

B1: Extracción del ADN de las muestras de microorganismos colectadas para análisis metagenómico.

B2: Secuenciación metagenómica mediante Next Generation Sequencing (NGS).

B3: Análisis de las secuencias e identificación de las especies de los microorganismos de las muestras.

9. Análisis de la proteómica del alimento, intestino y excretas. Evaluación de perfiles proteómico mediante espectrometría de masa MALDI TOF TOF en ensilado, microorganismos de intestino y excretas.

RESUMEN

Se aislaron microorganismos benéficos del tracto digestivo del lechón, utilizando medio lacto agar, caracterizando su genoma mediante su ADN con amplificación PCR encontrándose e identificándose, *Enterococcus hirae* ATCC 9790, *Lactobacillus brevis* ATCC 367, *Lactobacillus johnsonii* NCC 533, *Pediococcus pentosaceus* ATCC 25745), la mezcla de estos lactobacillus fueron utilizados como inóculo para la preparación del ensilado biológico de residuos de langostino EB, la dosis del inóculo (mezcla de los microorganismos en igual concentración), se evaluó mediante, dosificándolo a lechones pre destetados vía oral, dosis determinada por espectrofotometría, densidad óptica (DO) la mejor concentraciones correspondiente a 1.5 DO equivalente a 3×10^8 UFC/gr. Obteniendo el mejor ICA equivalente a 0,96.

El ensilado biológico de residuos orgánicos de *Litopenaeus vannamei* (EB) preparado, se evaluó inicialmente mediante metagenómica para la presencia y abundancia de microorganismos, se determinó una alta presencia de familia de lactobacilos 98%, El EB fue incorporado a las dietas pos destete a los lechones en cantidades de T0 0% , T1 5%, T2 10% y T3 20%, dieta con 18% de proteína, se obtuvo la mejor ganancia de peso de T1 10.94 kg, los tratamientos no tiene significancia estadística entre sí, el consumo de alimento más alto y semejantes entre sí fue de T0 21.63 kg, T1 18.53 y

menor consumo , T2 14.43 kg y T3 12.88 Kg., la mejor conversión alimenticia ICA fue del tratamiento T2 de 1.39, todos ellos diferentes estadísticamente a T0 de 2.38, la mayor digestión proteica de las dietas fue del T2 73.42%, en la caracterización física de las excretas no se presentó ni un cuadro diarreico, se aislaron microorganismos patógenos *Escherichia coli* y *salmonela*, en las cuales la concentración 1 en 20 fue negativa para estas bacterias patógenas, siendo la lectura en concentración de 1 en 11 menores a 1×10^5 UFC/gr. Se presentaron pequeñas colonia en el tratamiento T0 y T1

En el caso del análisis de meta genómica, realizado en el alimento, se determinó la presencia de microorganismos predominantes durante el recorrido del alimento en el tracto digestivo del lechón, iniciando el análisis del alimento, estomago, intestino y ciego, del lechón donde se determinó la semejanza de la microbiota existente, con microorganismos benéficos con mayor similitud entre intestino delgado y ciego. Existe la presencia de microorganismos patógenos en muy pequeñas cantidades los cuales no se manifestaron. Se realizó una prueba comparativa para hallar metabolitos proteicos relacionados con el alimento y de algún patógeno, a través de la Proteomica, en lo cual se encontró la presencia de proteínas semejante entre insumos - alimento y estómago como con mayor peso molecular, muchos metabolitos desaparecieron en intestino y colon, no hay presencia de metabolitos proteicos de origen de microorganismos patógenos en tracto digestivo, se aprecia también la degradación de la moléculas proteicas según sus pesos moleculares en la última parte del tracto digestivo del lechón.

Palabras claves

Caracterización molecular, metagenomica, genotipo, ensilado biológico, proteimica

Objetivo específicos

2. **Objetivo 2 Aislar cepas cultivables de microorganismos potencialmente benéficos del lechón asociados a la alimentación con ensilado biológico de residuos (*Litopenaeus vannamei*),**

Metodología

Aislamiento de bacterias nativas.- A partir de una granja de porcicultura ubicada en la ciudad de Tumbes ($3^{\circ}35'18,46''$ S; $80^{\circ}26'36,68''$ O), se realizó la selección de un lechón de 28 días de edad (destetado a los 21 días), con buen estado de salud y

alimentado con concentrado comercial sin antibióticos. Cumpliendo con los estándares de ética de manejo de animales, el lechón fue anestesiado por un médico veterinario vía entra-venosa, dosis de 3 mg/k.p.v. de Ketamina; para luego proceder con una laparotomía. Las muestras fueron obtenidas con hisopos estériles a partir de la mucosa epitelial del estómago, intestino delgado, intestino grueso y ciego. Se conservaron para su traslado, en tubos cónicos que contenían caldo Man, Rogosa y Sharpe (MRS) pH 6,5.



Figura 1 lechones de granja de 21 días, procedimiento de extracción de bacterias de lechones pre destetados para la incorporación de Inoculo de microorganismos benéficos del tracto digestivo del lechón

En el laboratorio, a partir de las muestras obtenidas se realizaron diluciones seriadas hasta 10^{-2} y fueron sembradas posteriormente por superficie en placas de Petri con agar MRS pH 6,5 y fueron incubadas a 37°C por 48 horas. Posteriormente, se realizaron purificaciones consecutivas en agar MRS de las colonias bacterianas aisladas, hasta obtener cultivos puros, los que fueron confirmados con tinción Gram. Las cepas seleccionadas fueron conservados en tubos con agar MRS inclinado a 4°C y criopreservados a -20°C en caldo MRS suplementado con 30% de glicerol .

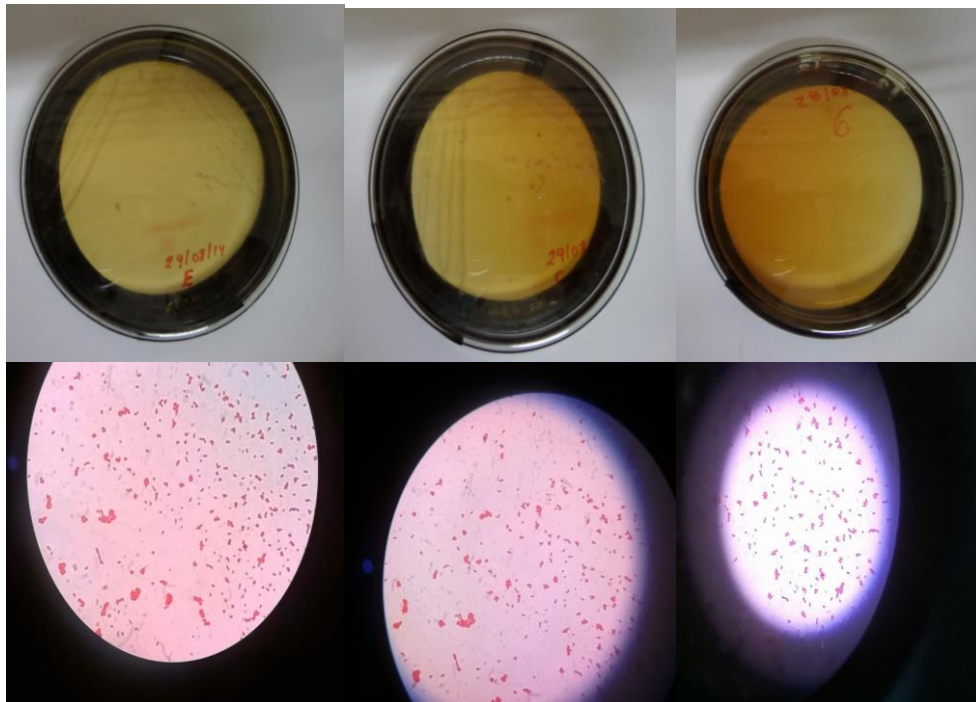


Figura 02 siembras de bacteria e identificación, Tinción gran, observación microscópica aumento 100X de lechones pre destetados para incorporación de Inoculo de microorganismos benéficos, tracto dig. del lechón

Identificación molecular mediante secuenciación del gen 16S ADNr.

Extracción de ADN.- Se utilizó el método rápido de ebullición para plásmidos pequeños de *Escherichia coli* (Basado en Holmes y Quigley 1981; modificado por Riggs y Mc Lachlan 1986) con modificaciones. Para esto, las cepas bacterianas seleccionadas fueron sembradas en tubos de vidrio con 10 mL de caldo MRS e incubadas a 37 °C por 24 horas. Luego se tomó 1,2 mL de la suspensión bacteriana en un microtubo de 1,5 mL y se centrifugó a 10000 rpm durante 2 minutos, se eliminó el sobrenadante y posteriormente se resuspendió el pellet de células con 500 uL de solución PBS 1X estéril y luego centrifugado a 10000 rpm por 1 minuto. Se eliminó el sobrenadante y se le agregó 200 uL de solución STET (sacarosa 8%, Tritón X-100 5%, EDTA 50 mM, Tris-HCl 50 mM pH 8,0) y 10 uL de Lisozima (20 mg/mL, disuelto en agua destilada), se incubó en baño de agua térmico a 100 °C por 45 a 55 segundos y se colocó sobre hielo. Se centrifugó a 13000 rpm por 10 minutos y se transfirió el sobrenadante a otro microtubo que contenía 400 uL de isopropanol frío y se dejó reposar en congelación por 30 minutos. Luego se centrifugó a 13000 rpm por

10 minutos y se eliminó el sobrenadante; el pellet obtenido fue lavado con etanol al 75% y secado a temperatura ambiente. Finalmente el pellet de ADN fue resuspendido con 200 uL de solución TE (Tris 1M y EDTA 0,1mM) a 65°C. Las muestras fueron conservados a -20°C hasta su utilización.



Figura 3 Extracción de ADN, termociclador y presencia de ADN de lechones pre destetados para incorporación de Inoculo de microorganismos benéficos del tracto digestivo del lechón Muestra en el termociclador Resultados: columna 1: código FE: banda fuerte positiva; columna 2: código FI2: banda fuerte positiva; columna 3: código 4: ausencia negativo; columna 4: código 6: banda fuerte positivo; columna 5: código I1A1: banda leve positivo; columna 6: código: I1A3: banda leve positivo.

Análisis por PCR.- Se utilizó la técnica de PCR (Reaction chain polimerase, por sus siglas en inglés) simple para amplificar la región 16S ADN_r. Para esto, se utilizaron los cebadores universales 16S ARNr F518 (CCAGCAGCCGCGTAATACG) y 16S ARNr R800 (TACCAGGGTATCTAATCC), descritos para estudios filogenéticos bacterianos (Lane 2001). Las reacciones de PCR se realizaron en mezclas de 25 uL, constituida por 2,5 uL de buffer Taq 10X, 1,5 mM de MgCl₂, 0,2 mM de cada dNTPs (10 mM), 0,5 U de Taq ADN polimerasa (Invitrogen), 0,36 pmol de cada cebador y 2 uL de ADN extraído. El perfil de la PCR se realizó en un termociclador (Thermo Scientific)

y consta de un ciclo de 94 °C por 6 min, seguido de 40 ciclos de 94 °C por 30 s, 58 °C por 45 s y 72 °C por 1 minuto y una extensión final a 72 °C por 4 minutos.

Los productos de amplificación fueron verificados por electroforesis en geles de agarosa al 1,5%, teñidos con bromuro de etidio (0,5 ug/mL) y por electroforesis en TAE 1X.

Secuenciación de los productos de la PCR.- Para la secuenciación se utilizó 10 uL de los productos obtenidos por amplificación en la PCR, y fueron colocados en microtubos de 0,2 mL. Además, se prepararon microtubos de 0,2 mL con porciones de 5 uL de cada cebador universal para el gen 16S ADNr. Estos fueron empacados y enviados a la empresa Macrogen de Estados Unidos, para realizar la secuenciación de las 2 cadenas de cada producto amplificado. Obtenidas las secuencias de ADN de cada producto amplificado, éstas fueron alineadas con el software libre MEGA 5 y comparadas posteriormente con las secuencias de 16S ADNr que se encuentra en la base de datos de acceso público del GenBank mediante el software libre BLAST (Basic Local Alignment Search Tool).

1. Los resultados de la identificación de las cepas purificadas por el gen 16S ARNr, de la microbiota gastro-intestinal porcino , mediante programa de bioinformática MEGA 6 y Blast fueron: *Enterococcus hirae* ATCC 9790 aislado del ileon con una identidad de 99%, la secuencia nucleotídica es:

```
CGCTTTTTTTTCTATGGGAGCTTTCCTCCACTGGAAAAAGAGGTGTGGCGAACGGGTGAG
TAACGTATGGGTAACCTACCCATCAGAAGGGGATAAACTTGGAAACAGGTGTTAATNCC
GTATAACAATCGAAACCGCATGGTTTTGATTTGAAAGGCGCTTTCGGGTGTGCTGATGGA
TGGACCCGCGGTGCATTAGCTAGTTGGTGAGGTAACGGCTCACCAAGGCGACGATGCATA
GCCGACCTGAGAGGGTGATCGGCCACATTGGGACTGAGACTCGGCCCAAACNTACGGG
AGGCAGCAGTAGGGAATCTTCGGCAATGGACGAAAGTCTGACCGAGCAACGCCGCGTGA
GTGAAGAAGGTTTTTCGGATCGTAAAACTCTGTTGTTAGAGAAGAACAAGGATGAGAGTAA
CTGTTCATCCCTTGACGGTATCTAACCAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCG
CGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGATTTATTGGGCGTAAAGCGAGCGCAGGCG
GTTTCTTAAGTCTGATGTGAAAGCCCCCGGCTCAACCGGGGAGGGTCATTGGAAACTGGG
AGACTTGAGTGACAGAAGAGGAGAGTGGAATTCATGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATAT
ATGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGGCTCTCTGGTCTGTAAGTACGCTGAGGCTCGAA
AGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGAGTGCT
AAGTGTTGGAGGGTTTCCGCCCTTCAGTGCTGCAGCTAACGCATTAAGCACTCCGCCTGGG
GAGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAGCGGTGGA
```

GCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAGGTCTTGACATCCTTTGACCA
 CTCTAGAGATAGAGCTTCCCCTTCGGGGGCAAAGTGACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCA
 GCTCGTGTCGTGAGATGTTGGGTAAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATTGTTAGTTGC
 CATCATTTAGTTGGGCACTCTAGCAAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGAT
 GACGTCAAATCATCATGCCCCTTATGACCTGGGCTACACACGTGCTACAATGGGAAGTAC
 AACGAGTCGCAAAGTCGCGAGGCTAAGCTAATCTCTTAAAGCTTCTCTCAGTTCGGATTGT
 AGGCTGCAACTCGCCTACATGAAGCCGGAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCACGCCGCG
 GTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTAACACCGCCCGTCACACCACGAGAGTTTGTAACACCC
 GAAGTC.SOURCE Enterococcus hirae ATCC 9790, ORGANISM Enterococcus

hirae ATCC 9790, Bacteria; Firmicutes; Bacilli; Lactobacillales; Enterococcaceae;
 Enterococcus. Encontrados en estudios relacionados con organismos benéficos según
 los autores REFERENCE 1 (bases 1 to 1563) AUTHORS Gaechter,T.,
 Wunderlin,C., Schmidheini,T. and Solioz,M. TITLE Genome Sequence of
 Enterococcus hirae (Streptococcus faecalis) ATCC, 9790, a Model Organism for the
 Study of Ion Transport,Bioenergetics, and Copper Homeostasis. (NCBI 2015)
 Mediante pruebas moleculares de amplificación eficientes PCR, (Espinoza 2015)
 (Rodriguez y Barrios 2015)

2. La cepa bacteriana ácido láctico aislado del duodeno, fue identificado como Lactobacillus brevis ATCC 367 , identidad de 99% y la secuencia nucleotidica correspondiente.

GAGTTTGATCATGGCTCAGGGACGAACGCTGGCGGCATGCCTAATACATGCAAGTCGAAC
 GAGCTTCCGTTGAATGACGTGCTTGCACTGATTTCAACAATGAAGCGAGTGGCGAACTGG
 TGAGTAACACGTGGGAAATCTGCCCAGAAGCAGGGGATAACACTTGGAACAGGTGCTA
 ATACCGTATAACAACAAAATCCGCATGGATTTTGTGTTGAAAGGTGGCTTCGGCTATCACTT
 CTGGATGATCCCGCGGCGTATTAGTTAGTTGGTGAGGTAAAGGCCACCAAGACGATGAT
 ACGTAGCCGACCTGAGAGGGTAATCGGCCACATTGGGACTGAGACACGGCCCAAACCTCCT
 ACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCACAATGGACGAAAGTCTGATGGAGCAATGCCG
 CGTGAGTGAAGAAGGGTTT Lactobacillus brevis ATCC 367 strain ATCC 367 16S
 ribosomal RNA, complete sequence, NCBI Reference Sequence: NR_075024.1

SOURCE Lactobacillus brevis ATCC 367 ORGANISM Lactobacillus brevis
 ATCC 367, Bacteria; Firmicutes; Bacilli; Lactobacillales; Lactobacillaceae;
 Lactobacillus. Encontrados en estudios relacionados con organismos benéficos según
 los autores es REFERENCE 1 (bases 1 to 1563) AUTHORS: Makarova,K.,
 Slesarev,A., Wolf,Y., Sorokin,A., Mirkin,B., Koonin,E., Pavlov,A.,

Pavlova,N., Karamychev,V., Polouchine,N., Shakhova,V., Grigoriev,I.,
 Lou,Y., Rohksar,D., Lucas,S., Huang,K., Goodstein,D.M., Hawkins,T.,
 Plengvidhya,V., Welker,D., Hughes,J., Goh,Y., Benson,A., Baldwin,K., Lee,J.H.,
 Diaz-Muniz,I., Dosti,B., Smeianov,V., Wechter,W., Barabote,R., Lorca,G.,
 Altermann,E., Barrangou,R., Ganesan,B., Xie,Y., Rawsthorne,H., Tamir,D.,
 Parker,C., Breidt,F., Broadbent,J., Hutkins,R., O'Sullivan,D., Steele,J., Unlu,G.,
 Saier,M., Klaenhammer,T., Richardson,P., Kozyavkin,S., Weimer,B. and Mills,D.
 TITLE Comparative genomics of the lactic acid bacteria. (NCBI 2015)

3. *Lactobacillus johnsonii* NCC 533 aislado del Estómago con una identidad de 99%, la secuencia nucleotídica es:

```
CCGNNTTNTTGGNNTTANGCGAGTGCAGGCGTTCAATAGGGCTGATGTGAAAGCCTTC
GGCTCCCCGGAAAGTTGCATCAGAACTGTTNGAACTTGAGTGCNAAAGAGGAGAGTGG
AACTCCATGTGTAGCGGTGGAATGCGTAGATATATGGAAGAACACCAGTGGCGAAGGCG
GCTCTCTGGTCTGCAACTGACGCTGAGGCTCGAAAGCATGGGTAGCGAACAGGATTAGAT
ACCCTGGTAGTCCATGCCGTAAACGATGAGTGCTAAGTGTTGGGAGGTTTCCGCCTCTCAG
TGCTGCAGCTAACGCATTAAGCACTCCGCCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCA
AAGGAATTGACGGGGGCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGC
GAAGAACCTTACCAGGTCTTGACATCCAGTGCAAACCTAAGAGATTAGGTGTTCCCTTCG
GGGACGCTGAGACAGGTGGTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTCTGAGATGTTGGGTTA
AGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTGTGATTAGTTGCCATCATTAAAGTTGGGCACTCTAATG
AGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGCCCCCTTAT
GACCTGGGCTACACACGTGCTACAATGGACGGTACAACGAGAAGCGAACCTGCGAAGGC
AAGCGGATCTCTTAAAGNCGTTCTCAGTTCGGACTGTAGGCTGCAACTCNNCTACACGAA
GCTGGAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCACGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCCTTG
TACACACCGCCCGTCAACACCATGAGAGTCTGTAAACNNCCNAANCAGGTGGGATAACCTT
TATAGGAGTCAGCCGTCTAAGGTAGGACAAATGATTAGGGTGAAGTCGTTAACAAGGTAA
CCCGNAAA
```

Lactobacillus johnsonii NCC 533 Encontrados en estudios relacionados con organismos benéficos según los autores Bacteria; Firmicutes; Bacilli; Lactobacillales(Zhanget.al.,2011), "A greedy algorithm for aligning DNA sequences", J Comput Biol 2000; 7(1-2):203-14 (NCBI 2015)

4. La cepa bacteriana ácido láctico aislado del ciego, fue identificado como *Pediococcus pentosaceus* ATCC 25745, identidad de 99% y la secuencia nucleotídica correspondiente.

```
NNNNNNNNNCGTNCNTTTNCNGNTTNTTGGGCGTAAANCTNGCGCACGCNNNCTTCTGGG
GGGATGTCTAAGCCTTCGGCTCCCCGNNGGTTGCATTGATAAACTGGGGGACTTGAGTGC
AGAAGAGGACATTGGAACCTCATGTGTAGCGGTGAAATGCGTGGATATATGGAAGAACA
```

CCAGTGGCGAAGGCGGCTGTCTGGTCTGCAACTGACGCTGAGGCTCGAAAGCATGGGTAG
 CGAACAGGATTAGATACCCTGGCAGTCCATGCCGTAAACAATGATTACTGAGTGTGGAG
 GGTTCGCCCTTCATTGCTGCAGCTAACGCATTAAGTAATCCGCCTGGGGAGTACGACCG
 CTGGTTGAAACTCAAAAGAATTGACGGGGGGCCGACACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAA
 TTCGAAGCTACGCGAAGAACCTTACCAGGTCTTGACATCTTCTGACAATCTAAGAGATTAG
 ACGTTCCCTTCCGGGACAGAATGACAGGTGGTGCATGGTTGTCATCAGCTCGTGTCATGAG
 ATGTTGGGTAAAGTCCCNCAACGAGCGCTACCCTTATTACTAGNTGCCAGAATTAAGTTGG
 GCAGTCTAATGCCACTGCCGGTGACNAACAGGAGAAGGTGGGGACGACGTCAAATCATC
 ATGCCCTTATGACCCGGGCTACCCACNTGCTACAATGGATGGTACAACGAGTCGCGAGAC
 CGCGAGGTTAAGCTAATCTCTTAAACCATTCTCAGTCGGACTGAAGGCTGCACCTCGCCT
 ACCCAAAATCCGGAATCGCTAGTAATCCCGGATCAGCATGCCCCNNN *Pediococcus*

pentosaceus ATCC 25745 Bacteria; Firmicutes; Bacilli; Lactobacillales

Encontrados en estudios relacionados con organismos benéficos según los autores
 REFERENCE Zhang, J., Deng, J., Wang, Z., Che, C., Li, Y.F., Yang, Q., 2011), "A
 greedy algorithm for aligning DNA sequences", J Comput Biol 2000; 7(1-2):203-14.
 (NCBI 2015) Mediante pruebas moleculares de amplificación eficientes PCR
 (Espinoza 2015) (Rodríguez. y Barrios 2015)

Evaluación de inóculos bacterianos.- Para los bioensayos, se utilizó treinta y seis
 lechones de *S. scrofa domesticus* de 14 días de edad (7 días al destete), con peso
 aproximado de 4 kg; de las razas Landrace/Belga (porcentaje 50/50) y
 Yorkshire/Belga (porcentaje 50/50), nacidos en la granja de la Facultad de Ciencia
 Agrarias de la Universidad Nacional de Tumbes. Se adecuó un ambiente de
 maternidad cerrado de 40 m² de área, con ventanales cubiertos con malla Rashel. Se
 instalaron jaulas de 3,4 m², correspondiendo un área de 1,4 m² para la madre y a cada
 lado de la jaula un pequeño cerco de 50 cm de ancho, 2 m de largo y 50 cm de alto,
 para sus lechones.

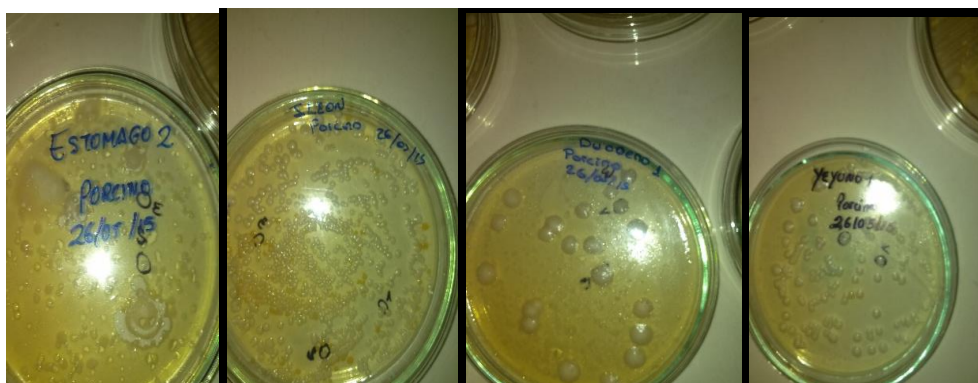




Figura 4, Sembrado y purificación bacterias en medio MRS+BACTO AGAR de lechones pre destetados para incorporación de Inoculo de microorganismos benéficos del tracto digestivo del lechón

Para evaluar el efecto del inóculo en el comportamiento productivo pre-destete (incremento de peso diario e índice de conversión alimenticia), se establecieron cuatro tratamientos experimentales (T0, T1, T2 y T3) distribuidos entre tres marranas, cada una contaba con 3 lechones por tratamiento. Los lechones seleccionados se les proporcionaron ad libitum una dieta base con 18% de proteína; formulada por medio del método del tanteo, corregida por el cuadrado de Pearson (Córdoba 1993) y una plantilla de hoja de cálculo programa WUFF versión 2002.

Se realizaron inóculos con mezclas en proporciones iguales de las cuatro bacterias aisladas, preparados a diferentes concentraciones cuantificadas con espectrofotometría a densidades ópticas de 0 DO (0 UFC/mL), 1,0 DO ($1,5 \times 10^8$ UFC/mL), 1,5 DO ($3,0 \times 10^8$ UFC/mL) y 2,0 DO ($4,5 \times 10^8$ UFC/mL) y suministrados directamente vía oral.

Diariamente se realizaron actividades que comprendían la alimentación, limpieza y verificación del estado de salud de los animales. Se registró el peso de los lechones, la cantidad de alimento consumido por grupo de cada marrana y residuos recogidos al día siguiente del alimento suministrado.



Figura 5 Purificación de los microorganismos mediante densidad óptica y la mezcla proporcional de estas, determinación de la dosis de inóculo de lechones pre destetados de microorganismos benéficos del tracto digestivo del lechón

Evaluación de inóculos bacterianos.- El valor de incremento de peso diario fue mayor en el tratamiento T1 (0,21 kg) y menor en el tratamiento T0 (0,05 kg), sin diferencias significativas entre todos los tratamientos. Por otro lado, los índices de conversión alimenticia (ICA) revelan que el tratamiento T2 logró el mejor valor (ICA = 0,963) y el tratamiento T0 valor el más alto (ICA = 3,241), encontrándose diferencias significativas para este parámetro evaluado (Cuadro 2).

Tabla 1. Valores de incremento de peso diario (kg) e índice de conversión alimenticia (ICA) en lechones con diferentes tratamientos de inóculos bacterianos.

Código	Tratamiento con inóculo bacteriano	Incremento de peso diario (kg)	Índice de conversión alimenticia (ICA)
T0	0 UFC/mL	0,054 ^a	3,241 ^a
T1	1,5 x 10 ⁸ UFC/mL	0,208 ^a	1,468 ^b
Letras T2	3,0 x 10 ⁸ UFC/mL	0,195 ^a	0,963 ^b
T3	4,5 x 10 ⁸ UFC/mL	0,160 ^a	1,686 ^b

diferentes en cada columna indican diferencias significativas entre tratamientos (Prueba de Duncan $P \leq 0,05$).

Figura 06. Peso diario (kg) de lechones pre destetados con incorporación de Inoculo de microorganismos benéficos del tracto digestivo del lechón

			PESO VIVO A LA LACTANCIA 28/01/15						PESO VIVO AL DESTETE 31/01/15								
TRATAMIENTOS		Sexo	1		2		3		4		5		6		7		Incremento
			Dosis	Peso	Dosis	Peso	Dosis	Peso	Dosis	Peso	Dosis	peso	Dosis	Peso	Dosis	Peso	
MORADO	1.	M	1.5 DO	9	1.5 DO	9	1.5 DO	9	1.5 DO	9	1.5 DO	9.3	1.5 DO	9.75	1.5 DO	9.75	0.75
Dosis	2.	M	1.5 DO	7.5	1.5 DO	7.5	1.5 DO	7.6	1.5 DO	8	1.5 DO	7.8	1.5 DO	8.25	1.5 DO	8.25	0.75
3x10 ⁸ UFC	3.	M	1.5 DO	7.8	1.5 DO	7.8	1.5 DO	7.8	1.5 DO	8.4	1.5 DO	8	1.5 DO	8.5	1.5 DO	8.5	0.7
	4.	M	1.5 DO	8	1.5 DO	8	1.5 DO	8.4	1.5 DO	8.9	1.5 DO	8.6	1.5 DO	9	1.5 DO	9	1
	5.	M	1.5 DO	7	1.5 DO	7	1.5 DO	7	1.5 DO	7.2	1.5 DO	7.2	1.5 DO	7.5	1.5 DO	7.5	0.5
	6.	H	1.5 DO	10	1.5 DO	10	1.5 DO	10	1.5 DO	11	1.5 DO	11	1.5 DO	11	1.5 DO	11	1
promedio			1.5 DO	8.217	1.5 DO	8.217	1.5 DO	8.3	1.5 DO	8.75	1.5 DO	8.65	1.5 DO	9	1.5 DO	9	0.78333333
VERDE	1.	M	2.0 DO	10	2.0 DO	10	2.0 DO	10.6	2.0 DO	11.2	2.0 DO	11	2.0 DO	10.9	2.0 DO	10.9	0.9
Dosis	2.	H	2.0 DO	7	2.0 DO	7	2.0 DO	7	2.0 DO	7.6	2.0 DO	7.4	2.0 DO	7	2.0 DO	7	0
4.5x10 ⁸	3.	M	2.0 DO	9.5	2.0 DO	9.5	2.0 DO	10	2.0 DO	10.4	2.0 DO	11.4	2.0 DO	10.6	2.0 DO	10.6	1.1
UFC	4.	H	2.0 DO	8	2.0 DO	8	2.0 DO	8	2.0 DO	9	2.0 DO	8.8	2.0 DO	8.9	2.0 DO	8.9	0.9
	5.	M	2.0 DO	5.2	2.0 DO	5.2	2.0 DO	5.4	2.0 DO	5.4	2.0 DO	5	2.0 DO	5.9	2.0 DO	5.9	0.7
	6.	M	2.0 DO	8	2.0 DO	8	2.0 DO	8	2.0 DO	8.4	2.0 DO	8.2	2.0 DO	8.25	2.0 DO	8.25	0.25
promedio			2.0 DO	7.95	2.0 DO	7.95	2.0 DO	8.167	2.0 DO	8.667	2.0 DO	8.633	2.0 DO	8.59	2.0 DO	8.592	0.64166667
ROJO	1.	H	1.0 DO	11	1.0 DO	11	1.0 DO	10.6	1.0 DO	11.2	1.0 DO	11	1.0 DO	11.5	1.0 DO	11.5	0.5
Dosis	2.	M	1.0 DO	9	1.0 DO	9	1.0 DO	9.4	1.0 DO	10	1.0 DO	10	1.0 DO	10	1.0 DO	10	1
1.5x10 ⁸	3.	M	1.0 DO	7	1.0 DO	7	1.0 DO	7.2	1.0 DO	7.4	1.0 DO	7.8	1.0 DO	7.5	1.0 DO	7.5	0.5
UFC	4.	H	1.0 DO	6	1.0 DO	6	1.0 DO	5	1.0 DO	6	1.0 DO	5.8	1.0 DO	6.25	1.0 DO	6.25	0.25
	5.	H	1.0 DO	8	1.0 DO	8	1.0 DO	9	1.0 DO	9.4	1.0 DO	9.8	1.0 DO	9.75	1.0 DO	9.75	1.75
	6.	M	1.0 DO	7	1.0 DO	7	1.0 DO	7.2	1.0 DO	7.4	1.0 DO	8	1.0 DO	8	1.0 DO	8	1
promedio			1.0 DO	8	1.0 DO	8	1.0 DO	8.067	1.0 DO	8.567	1.0 DO	8.733	1.0 DO	8.83	1.0 DO	8.833	0.83333333
CONTROL	1.	M	0.0 DO	9.5	0.0 DO	9.5	0.0 DO	9.6	0.0 DO	9.4	0.0 DO	9.4	0.0 DO	9.5	0.0 DO	9.5	0
	2.	H	0.0 DO	6.2	0.0 DO	6.2	0.0 DO	6.4	0.0 DO	6.8	0.0 DO	7	0.0 DO	6.75	0.0 DO	6.75	0.55
	3.	M	0.0 DO	5.4	0.0 DO	5.4	0.0 DO	5.4	0.0 DO	5.4	0.0 DO	5.8	0.0 DO	5.5	0.0 DO	5.5	0.1
promedio			0.0 DO	7.033	0.0 DO	7.033	0.0 DO	7.133	0.0 DO	7.2	0.0 DO	7.4	0.0 DO	7.25	0.0 DO	7.25	0.21666667

Procesamiento de datos.- La unidad experimental fue un animal. Los datos fueron registrado en una hoja electrónica y los datos procesados con el programa estadístico de Excel; determinándose la prueba de análisis de varianza, y luego la prueba de significancia de Duncan. Los datos se analizaron con un nivel de significancia $\alpha = 0,05$.

El análisis de varianza (Tabla 3) no se encontró efecto significativo, con un coeficiente de variación alto CV = 140,8. Con la comparación Duncan (Tabla 4) se ordenó los tratamientos de mayor a menor. En la cual los valores estadísticamente son semejantes entre sí.

Tabla 2. Incremento en peso diario (kg) de lechones pre destetados con incorporación de Inoculo de microorganismos benéficos del tracto digestivo del lechón.

Etapa	Clave	R1	R2	R3	R4	Promedio
Lechones Pre destetados	T0	0.10	0.07	0.20	-0.15	0.05416
	T1	0.07	0.50	0.17	0.10	0.20833
	T2	0.08	0.45	-0.10	0.35	0.19583
	T3	0.22	0.50	-0.03	-0.04	0.16041

Tabla 3. Análisis de Varianza para incrementos de pesos diario (kg) de lechones pre destetados con incorporación de Inoculo de microorganismos benéficos del tracto digestivo del lechón.

Fuentes variación	GL	Suma cuad	Cuad. Medio	Fo	F 5%	F 1%	Signfic.
Tratamientos	3	0.0588324	0.019610822	0.41342	3.4902	5.95	NS
Error experimental	12	0.5692187	0.047434896				
Total	15	0.6280512					

Coefficiente de variación: (CV)= 140,8%

Tabla 4. Duncan ($\alpha = 0,05$) para incrementos de pesos diario (kg) de lechones pre destetados con incorporación de Inoculo de microorganismos benéficos del tracto digestivo del lechón.

Clave	Tratamiento	Promedio	Duncan
T0	0 x108 UFC/gr. (0 DO) Inoculum	0.054	a
T1	1.5 x108 UFC/gr. (1 DO) Inoculum	0.208	a
T2	3 x108 UFC/gr. (1.5 DO) Inoculum	0.195	a
T3	4.5 x108 UFC/gr. (2 DO) Inoculum	0.160	a

Consumo de alimento.

En el consumo de alimento de los lechones pre destetados para determinar la mejor dosis de inoculo durante la fase experimental el menor consumo se presentó en el tratamiento T2 (,2552 kg). El mayor consumo se presentó en el tratamiento T0, (0,5816 kg), (Cadillo, 2008; DEA 2003).como se indica en la Tabla 5.

El análisis de varianza (Tabla 6) de los con sumos de alimento total muestra efectos semejantes entre los tratamientos; con un CV= 96,85. La comparación Duncan (tabla 7) muestra el tratamiento T0 como el de mayor consumo de alimento pero sin semejantes estadísticamente con los otros tratamientos

Tabla 5. Consumo de alimento kg/día de lechones pre destetados con incorporación de Inoculo de microorganismos benéficos del tracto digestivo del lechón.

Etapas	Clave	R1	R2	R3	R4	Promedio
Lechones pre destetados	T0	0.38	0.10	0.87	0.97	0.581558
	T1	0.08	1.25	0.11	0.15	0.397333
	T2	0.08	0.39	0.21	0.34	0.255212
	T3	0.29	0.51	0.18	0.14	0.278940

Tabla 6. Análisis de Varianza para consumo de alimento (kg) de lechones pre destetados con incorporación de Inoculo de microorganismos benéficos del tracto digestivo del lechón

Fuentes variación	GL	Suma cuad	Cuad. Medio	Fo	F 5%	F 1%	Signific.
Tratamientos	3	0.266795844	0.088931948	0.6625926	3.4902	5.95	NS
Error experimental	12	1.6106176	0.134218133				
Total	15	1.877413443					

Coefficiente de variación: (CV)= 96,85%

Tabla 7. Duncan ($\alpha = 0,05$) para consumo de alimento kg/día de lechones pre destetados con incorporación de Inoculo de microorganismos benéficos del tracto digestivo del lechón.

Clave	Tratamiento	Promedio	Duncan
T0	0 x108 UFC/gr. (0 DO) Inoculum	0.58	a
T1	1.5 x108 UFC/gr. (1 DO) Inoculum	0.40	a
T2	3 x108 UFC/gr. (1.5 DO) Inoculum	0.26	a
T3	4.5 x108 UFC/gr. (2 DO) Inoculum	0.28	a

Adecuación de corrales y dosificación, Pesos obtenidos de animales para determinar nivel adecuado para dosificar el ensilado que será utilizado como alimento en la fase de preinicio





Figura 7 pesado de lechones y evaluación de lechones pre destetados con incorporación de Inoculo de microorganismos benéficos del tracto digestivo del lechón

El índices de conversión alimenticia (ICA) de los lechones pre destetados con incorporación de Inoculo de microorganismos benéficos del tracto digestivo del lechón, cuyos resultados se presentan en la (Tabla 8), revelan que en el tratamiento T2 son las que lograron un mejor ICA 1,387 y en el tratamiento T0 el más alta 2,375. (Cadillo 2008) (DEA 2003).

El análisis de varianza (Tabla 9) de los ICA, muestra efectos significativos entre tratamientos. La comparación Duncan (tabla 10), de los ICA, indica significancia entre el tratamiento T0 con los otros tratamientos, pero semejanza entre los T1, T2 y T3.

Tabla 8. Índice de conversión alimenticia diaria (ICA) total de lechones pre destetados con incorporación de Inoculo de microorganismos benéficos del tracto digestivo del lechón

Etapas	Clave	R1	R2	R3	R4	Promedio
Lechones pre destetados	T0	3,84	3,3	4,33	1,55	3.241
	T1	1,25	2,50	1,5	0,66	1.46833
	T2	0,95	0,96	1,07	0,87	0.96333
	T3	1,34	1,68	2,71	1,01	1.68636

Tabla 9. Análisis de Varianza para Índice de conversión alimenticia (ICA) total de lechones pre destetados con incorporación de Inoculo de microorganismos benéficos del tracto dig. del lechón.

Fuentes variación	GL	Suma cuad	Cuad. Medio	Fo	F 5%	F 1%	Signfic.
Tratamientos	3	11.57233809	3.857446031	5.90268	3.49029	5.95	*
Error experimental	12	7.84208874	0.653507395				
Total	15	19.41442683					

Coeficiente de variación: (CV)= 43,94%

Tabla 10. Duncan ($\alpha = 0,05$) para el Índice de conversión alimenticia (ICA) total de lechones pre destetados con incorporación de Inoculo de microorganismos benéficos del tracto dig. del lechón.

Clave	Tratamiento	Promedio	Duncan
T0	0 x108 UFC/gr. (0 DO) Inoculum	3.241	a
T1	1.5 x108 UFC/gr. (1 DO) Inoculum	1.46833	b
T2	3 x108 UFC/gr. (1.5 DO) Inoculum	0.96333	b
T3	4.5 x108 UFC/gr. (2 DO) Inoculum	1.68636	b

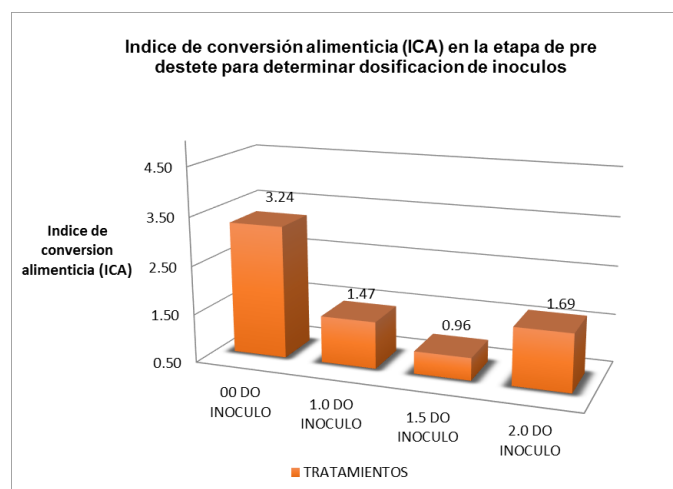


Figura 8. Índice de conversión alimenticia (ICA) total de lechones pre destetados con incorporación de Inoculo de microorganismos benéficos del tracto digestivo del lechón.

Resultados

Aislamiento e identificación de bacterias.- Se aislaron un total de 19 cepas bacterianas de diferentes regiones del tracto digestivo del lechón, con diferentes características morfológicas. La evaluación de sus características fenotípicas, permitió seleccionar 04 cepas bacterianas para su identificación molecular (Tabla 1) y fueron clasificadas dentro del orden Lactobacillales o denominadas también bacterias ácido lácticas (Figura 1).

Tabla 11. Identificación molecular mediante el gen 16S ARNr de cepas bacterianas aisladas del tracto digestivo de lechón.

Nº	Código	Porción del tracto intestinal	Tamaño de la secuencia (pb)	Especie identificada	% de identidad	Nº de accesoión
1	E1A1	Estómago	966	<i>Lactobacillus johnsonii</i>	98	AB809585.1
2	I2A2	Duodeno	438	<i>Lactobacillus brevis</i>	99	KF923753.1
3	I1A3	Íleon	1391	<i>Enterococcus hirae</i>	99	LC097067.1
4	G1	Ciego	775	<i>Pediococcus pentosaceus</i>	94	KC439684.1

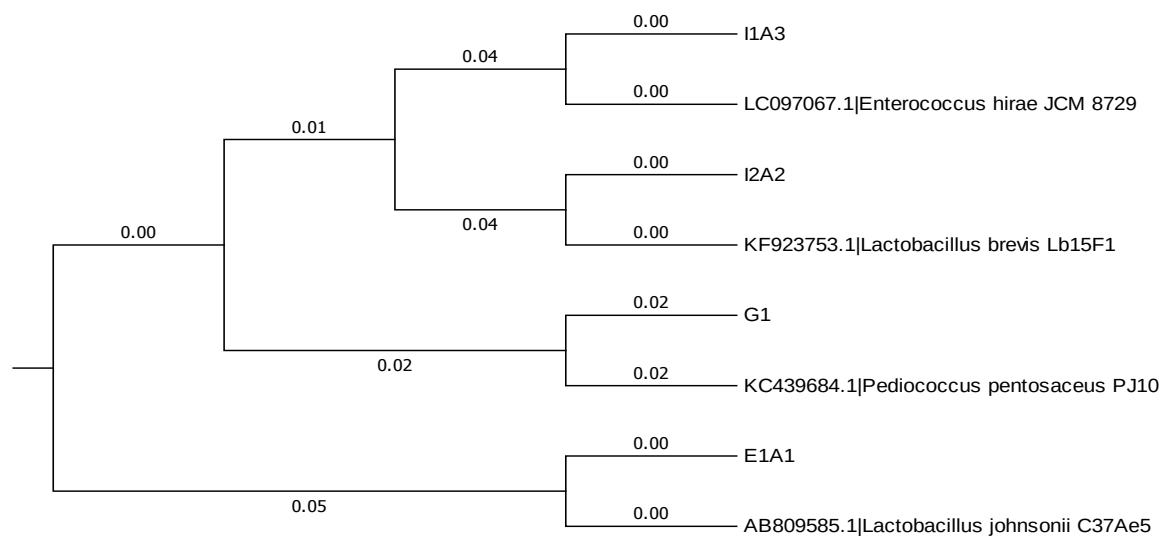


Figura 9. Árbol filogenético mostrando las relaciones de las bacterias ácido lácticas aisladas del tracto digestivo de cerdo.

Discusión

En la crianza de cerdos, la flora microbiana natural del tracto digestivo le proporciona condiciones adecuadas para poder utilizar eficientemente los alimentos (Rosmini 2004, Cranwell 1985). Dentro de esta flora microbiana, las bacterias son las más predominantes y colonizan específicamente cada porción del tracto intestinal, permitiendo una asociación simbiótica con el hospedero (Hong et al. 2011). Para este fin, es importante utilizar bacterias benéficas aisladas de la misma especie en producción, debido a la alta especificidad de estas por su hospedero, mejorando la salud general y crecimiento de la especie en la que es utilizada. En nuestro estudio, se logró aislar e identificar molecularmente mediante el gen 16S ARNr, cuatro especies bacterianas (*Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus johnsonii*, *Enterococcus hirae* y *Pediococcus pentosaceus*) agrupadas dentro las bacterias ácido lácticas, que comprenden entre otros, a los géneros *Lactococcus*, *Streptococcus* y *Leuconostoc* (Mallo, et al. 2010, Collado y Sanz 2007, Partanen y Mroz 1999, Cueto et al. 2010). Diferentes estudios demuestran que la presencia de lactobacilos en el tracto digestivo del cerdo mejoran el rendimiento productivo (Konstantinov et al. 2006, Lamendela et al. 2011, Loft et al. 2014, Deusch et al. 2015). Para este fin, estas bacterias utilizan

diferentes mecanismos de acción relacionadas con la estimulación de la inmunidad, producción de sustancias inhibitorias, competencia por la adhesión en los receptores del epitelio intestinal y por nutrientes (Blajmana et al. 2015, Champagne et al. 2005, Klose et al. 2010, Pluske et al. 2003, De Lange et al. 2010, Castillo 2000).

Estudios dirigidos por Gebert et al. (2011), demuestran que la colonización temprana del tracto gastrointestinal con la cepa 1E1 de *Lactobacillus brevis*, mejora el sistema inmune y reduce el establecimiento de patógenos en lechones en la fase de lactancia. Asimismo, la especie *Pediococcus pentosaceus* DPC6006 fue aislada, seleccionados in vitro con base a criterios probióticos y ensayada in vivo en lechones, reduciendo la cantidad de microorganismos indeseables del tracto digestivo (Gardiner et al. 2004). Por otro lado, en investigaciones dirigidas por Wang et al. (2014), demostraron que la administración de *L. johnsonii* XS4 en dietas para cerdas durante el final del embarazo y durante la lactancia, tuvieron efectos positivos sobre el rendimiento. Además, Buhnik-Rosenblau et al. (2012) sugieren que *L. johnsonii* tiene una alta especificidad por sus hospederos que pueden ser pollos de cría, pavo real, tortuga, ratones, hámster, rata, humano, becerros, perro. Esta especie bacteriana es considerada potencialmente probiótica y de gran interés para la industria alimentaria y farmacéutica (Pridmore et al. 2004, La Ragione et al. 2004). Por otra parte, diversos autores reportan a *Enterococcus* sp. como una bacteria comensal del intestino de muchos mamíferos, entre ellos, gatos, perros, ratas, cerdos y terneros (Etheridge et al. 1988, Jergens et al. 1991). Estudios realizados por Larsson et al. (2014), mencionan que la especie *E. hirae* coloniza específicamente el epitelio intestinal de lechones, generando diarreas. En otros casos, aislados bacterianos de *E. hirae* a partir de fluidos del rumen de *Bos primigenius*, presentaba propiedades bactericidas y antiinflamatorias (Arokiyaraj et al. 2014).

En nuestro estudio se obtuvieron mejores resultados de ICA con los tratamientos que contenían inóculo bacteriano a diferentes concentraciones, es posible que la presencia de este grupo bacteriano en el tracto digestivo de lechones tenga influencia positiva sobre la digestibilidad de los alimentos, lo que conlleva a mejorar la conversión alimenticia (Pérez et al. 2007). Además, según Blajman et al. (2015) estas bacterias también promueven el crecimiento e inhiben el desarrollo de microorganismos patógenos. Estudios similares de aplicación de inóculos bacterianos a diferentes

especies de cría criados bajo condiciones de estabulación, demuestran mejoras en los resultados de ganancia de peso (Frizzo et al. 2011, Blajman et al. 2015).

Considerando la información obtenida, la metodología aplicada puede ser evaluada en diferentes especies utilizadas para la producción de carne y productos industriales, desde el cultivo de peces y langostinos hasta la crianza intensiva de animales mayores. Los resultados obtenidos nos permiten enfocarnos hacia otros estudios relacionados con el modo de aplicación masiva de bacterias benéficas para mejorar la productividad de la cría intensiva de animales.

1. Caracterizar metagenómica dirigida (ADN) la diversidad de microorganismos asociados al ensilado biológico de residuos (*Litopenaeus vannamei*),

Preparación de la solución madre, **Activación de los microorganismos**, para cada muestra se hierve un litro de leche con movimiento constante, dejarlo enfriar hasta 40 °C ha, agregar los microorganismos AISLADOS y dejarlos incubar por una hora luego llevarlo a congelación -04 °C hasta su uso.

Preparación de yogur cocción de la leche, incubación, mezclado con lactobacilos e incubado.

Preparación del ensilado biológico

Cocción de materia prima, en agua caliente agregar la materia prima (residuos de procesamiento de langostino)

Mezclado de materia prima para el ensilado, e mezclan en proporción de 70% de materia prima y 30% de melaza más el microorganismo encontrado

Fermentación, se mezcla y se conserva de forma anaeróbica, el primer día hermético, luego se controla el Ph para determinar el grado de acides el cual depende de los días que desciende PH 4 al tercer día y manteniéndose



Figura 1 Elaboración del Yogurt y del ensilado biológico de residuos de langostino con inoculo de lactobacilos benéficos del lechón para la alimentación de lechones destetados alimentadas con ensilado: cocción incorporación de inoculo, mezclado, incubación con lactobacilos, melaza Enfriado Fermentación y evaluación de acides

Objetivo 01

Identificar los principales microorganismos mediante metagenómica del ensilado biológico de residuos (*Litopenaeus vannamei*), del tracto digestivo del lechón para dietas de inicio para lechones (*Sus escrofa domesticus*)

Resumen

El ensilado biológico de residuos orgánicos de *Litopenaeus vannamei* (EB) preparado,

se evaluó inicialmente mediante metagenómica para la presencia y abundancia de microorganismos, se determinó una alta presencia de familia de lactobacilos 98%, En el caso del análisis de meta metagenómica, realizado en el alimento, se determinó la presencia de microorganismos predominantes durante el recorrido del alimento en el tracto digestivo del lechón, iniciando el análisis del alimento, estomago, intestino y ciego, del lechón donde se determinó la semejanza de la microbiota existente, con microorganismos benéficos con mayor similitud entre intestino delgado y ciego. Existe la presencia de microorganismos patógenos en muy pequeñas cantidades los cuales no se manifestaron. Caracterización molecular, metagenómica, genotipo, ensilado biológico,

Extracción de la muestra del ensilado

Preparación de muestras del ensilado para la extracción de ADN

Extracción ADN Metagenómico Del Ensilado, Pesar 4 g de muestra de ensilado y colocar en 10 ml sodium phosphate buffer 1X (0.1% Tween 80, pH 7). Dejar incubar por toda la noche a temperatura ambiente, con agitación constante en shaker.

Extraer el sobrenadante de la suspensión y centrifugar a 5500 rpm por 10 min. Se descarta el sobrenadante y se obtiene un pellet. Adicionar al pellet 0.1g perlas de vidrio, y macerar vigorosamente por 1 min en vórtex.

Realizar dos lavados con 3 ml TE Buffer 50/50 (50 mM Tris-HCl, 50 mM EDTA, pH 8.0), vortexear previamente por 1 min, centrifugar a 5500 rpm por 5 min., Luego de cada lavado descartar el sobrenadante.

Adicionar 2 mL de TE 50/50, vortexear y añadir 20 µl de lisozima (50 µl de proteinasa K (20mg/ml) y 2 ul de ARNasa, homogenizar e incubar a 37°C por 15 min.

Adicionar 200µl de SDS e incubar 10% por hora a 65°C.

La lisis se realiza por shock térmico (en 3 ciclos) colocando la muestra por 5 minutos a nitrógeno líquido o (hielo seco + isopropanol) verificar que este congelada, y luego transferir a agua hirviendo (100°C) por 15 min.

Luego del Shock adicionar un volumen de Fenol: Cloroformo: Alcohol Isoamil (25:24:1) centrifugar 5500 rpm por 20 min, recuperar el sobrenadante en tubos eppendorf, adicionar 500 uL de PEG 8000 mantener a T° ambiente por 1 hora, centrifugar a 9000 rpm por 20 min, descartar el sobrenadante.

Disolver el pellet en 500 uL de TE 10/1 (10 mM Tris-HCl, 1 mM sodium EDTA, pH 8.0), 50 uL de acetato de potasio 5 M e incubar a 4°C por 15 min, centrifugar a 13000 rpm por 15 min a 4°C, recuperar el sobrenadante.

El ADN del sobrenadante fue extraído con la adición de 1 volumen de phenol-chloroform-isoamyl alcohol (25:24:1). La mezcla fue centrifugada a 5000 rpm por 10 min y el sobrenadante fue colectado. El ADN fue precipitado por la adición de 0.7 vol. isopropanol helado. La mezcla fue llevada a incubación por toda la noche a -20°C. Posteriormente el DNA fue colectado por centrifugación a 10 000 rpm por 10 min, y el pellet resultante fue lavado con etanol helado 95% y centrifugado a 10 000 rpm por 5 min y una con etanol al 70%, centrifugado a 10 000 rpm por 5 min. Se dejó secar a temperatura ambiente por 15 minutos.

El DNA fue resuspendido en 30 µL TE buffer-HCl, 110/1mMEDTA, (10 mM pH 8.0).

Conservación de ADN: Se re suspendió el pellet utilizando T.E. a pH. 8 10/1 a 65°C. Las muestras fueron conservadas a -4°C hasta su utilización.



Figura 02 Toma de muestras de ensilado para la extracción de ADN destinado a la METAGENOMICA del ensilado y del alimento en diferentes partes del tracto digestivo del lechón alimentado con ensilado biológico de residuos de langostino con inoculo de lactobacilos benéficos del lechón

Resultados del análisis de ADN metagenómico de ensilado de camarón:

El análisis de las secuencias globales de metagenómica dirigida específicamente a bacterias a través del gen ADNr16s de ensilado de residuos de camarón mostraron que el orden Lactobacillus predomina en (92.86%) seguido de Clostridiales (6.39%) y en los géneros Lactobacillus casei (39%) y Lactococcus lactis (15%) revelaron una mayor abundancia en comparación con los géneros de menor concentración

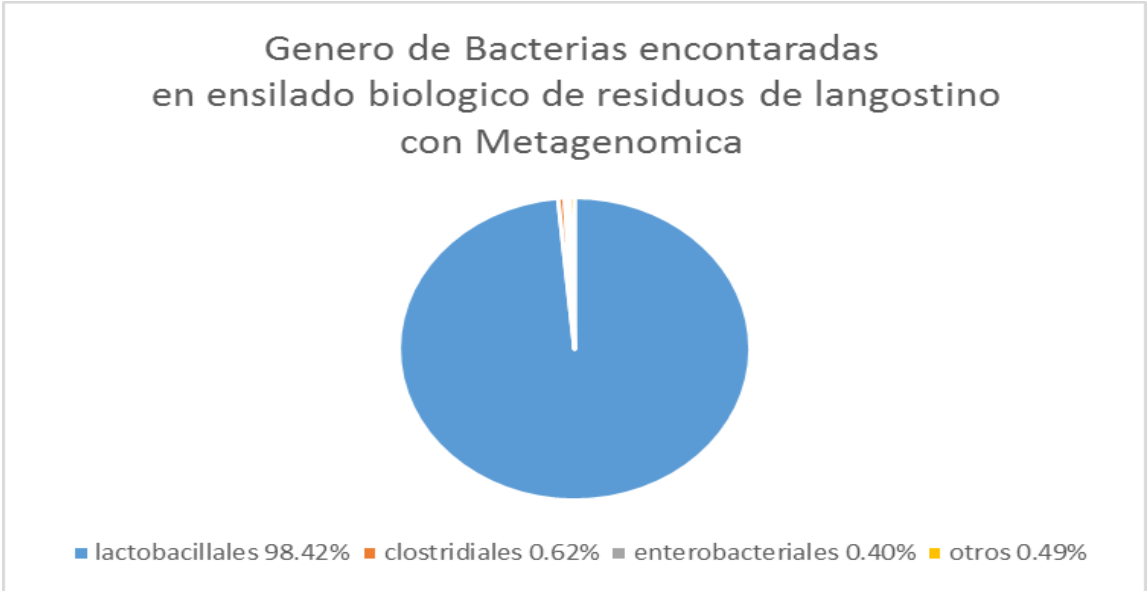


Figura 03 Genero de bacterias encontradas en el ensilado biologico de residuos de langostino con inoculo de lactobacilos benéficos del lechón para la alimentacion de lechones

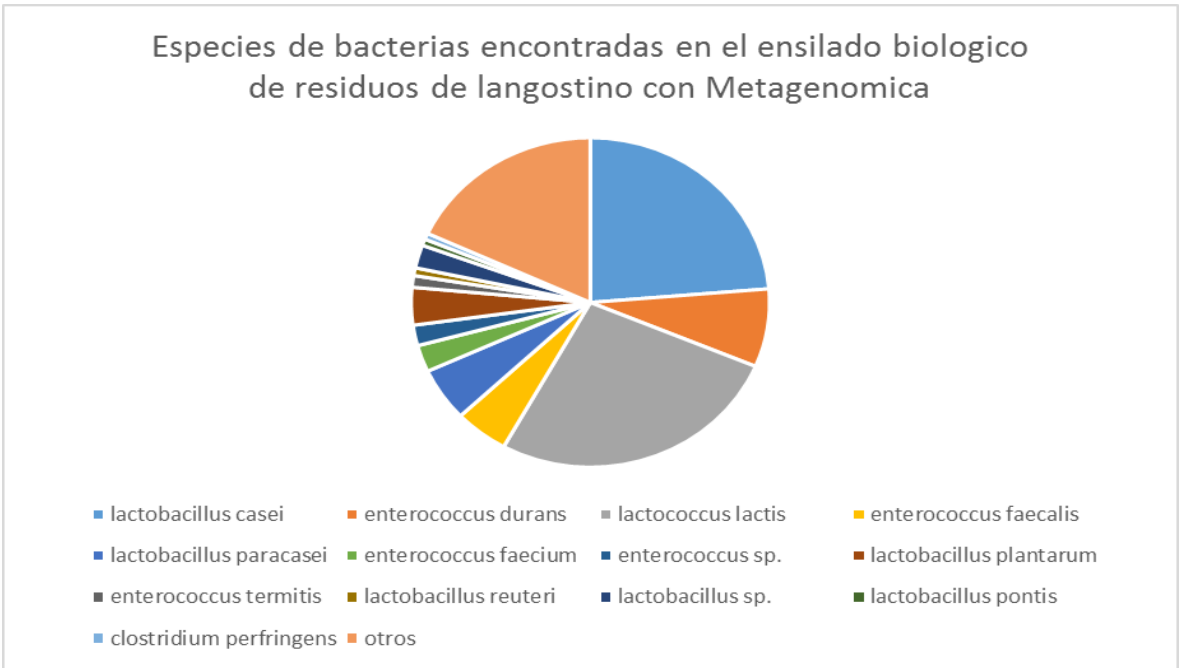


Figura 04 Predominancia de bacterias del genero lactobacilos encontradas en el ensilado biologico de residuos de langostino con inoculo de lactobacilos benéficos del lechón para la alimentacion de lechones

Resultado y Discusiones, metagenomica del ensilado biológico preparado con residuos del procesamiento de langostino.

Manifiesta que la metagenomica es un buena practica para identificacion de microorganismos (Lamendela et al., 2011) Los residuos de productos pesquero procesados y fermentados industriales tiene presncia de microorganismos que faborecen la digestibilad y son utilizado en animales (Bertullo 2001) (Casaburi, et. al. 2003) (Leroy y De Vuyst 2004) (Lessi 1990) (Mendoza 1994)

Los microorganismos del genero lactbacilos tienene influencia en la digestibilidad de los alimentos (Alvarez 2014) (Parra 2010)(Perez et. Al. 2007)

bacterias propias dela limento			resumen dominates estomago			resumen dominates excretas		
bacteria	cantidad		bacteria	cantidad		bacteria	cantidad	
<i>lactobacillus pontis</i>	5.3742		<i>campylobacter cunicul</i>	0.528		<i>prevotella ruminicola</i>	0.838	
<i>enterococcus faecal</i>	3.3564		<i>streptococcus sanguinis</i>	0.230		<i>bacteroides spp.</i>	0.809	
<i>acetobacter pasteur</i>	1.9806		<i>prevotella multisacchar</i>	0.197		<i>treponema berlinense</i>	0.651	
<i>enterococcus sp.</i>	1.8170		<i>shewanella putrefaciens</i>	0.197		<i>rikenella spp.</i>	0.564	
<i>kurthia gibsonii</i>	1.3584		<i>brachy bacterium parac</i>	0.185		<i>allobaculum stercorican</i>	0.313	
<i>pantoea sp.</i>	1.3064		<i>veillonella dispar</i>	0.180		<i>holdemanella eubacteri</i>	0.254	
<i>sporosarcina sp.</i>	1.1874		<i>thiothrix eikelboomii</i>	0.174		<i>eubacterium pyruvativo</i>	0.216	
<i>methylobacterium t</i>	1.0907		<i>micrococcus luteus</i>	0.152		<i>gracilibacter spp.</i>	0.216	
<i>pantoea dispersa</i>	0.8874		<i>pseudomonas sp.</i>	0.118		<i>olsenella sp.</i>	0.214	
<i>salmonella enterica</i>	0.7759		<i>collinsella aerofaciens</i>	0.112		<i>ruminiclostridium eubac</i>	0.203	
<i>halospirulina sp.</i>	0.7461		<i>lachnospira spp.</i>	0.101		<i>paludibacter spp.</i>	0.197	
<i>pantoea spp.</i>	0.7214					<i>cytophaga spp.</i>	0.157	
<i>leifsonia poae</i>	0.6395					<i>holdemania spp.</i>	0.136	
<i>enterococcus faeciu</i>	0.6148					<i>roseburia sp.</i>	0.129	
<i>burkholderia sp.</i>	0.5726					<i>streptococcus hyointest</i>	0.124	
<i>klebsiella sp.</i>	0.5701					<i>olsenella spp.</i>	0.113	
<i>xanthomonas transl</i>	0.5553					<i>spirochaeta spp.</i>	0.108	
<i>enterobacter horma</i>	0.5255							
<i>anabaena spp.</i>	0.4883							
<i>kluiveria ascorbata</i>	0.4115							
<i>luteibacter sp.</i>	0.4016							
<i>pantoea agglomerar</i>	0.3966							
<i>enterobacter spp.</i>	0.3594							
<i>idiomarina seosiner</i>	0.3570							
<i>lactococcus garvieae</i>	0.3495							
<i>psychrobacter celer</i>	0.3495							
<i>macrococcus equipe</i>	0.3198							
<i>pseudomonas oryzi</i>	0.3198							
<i>oceanimonas smirne</i>	0.3099							
<i>psychrobacter sp.</i>	0.2826							
<i>salinicoccus siamen</i>	0.2826							
<i>desemzia incerta</i>	0.2405							
<i>streptococcus hyoin</i>	0.2305							
<i>weissella cibaria</i>	0.2256							

Figura 05. Bacterias predominantes obtenidas mediante metagenomica en el alimento, estómago y ciego del aparato digestivo de lechones alimentadas con ensilado biológico de residuos de langostino con inoculo de lactobacilos benéficos del lechón 21 días de edad

OBJETIVO 08

Análisis de la microbiota del alimento, intestino del lechón y excretas, Caracterizar mediante metagenómica dirigida (ADN) la diversidad de microorganismos (presencia y prevalencia de microorganismos benéficos y patógenos)

Determinación de muestras para la extracción de ADN destinados la Metagenomica.

Extracción de ADN del Alimento, intestino y excretas.

Extracción de muestras

Los lechones destetados de 4 semanas de edad en buen estado de salud, se realizó una selección de un lechón al azar. De la granja del centro pecuario de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad de Tumbes, alimentados con concentrado experimental al 18% de proteína con insumos de la región a los cuales se les incorporo 5 a 10 y 15% de ensilado biológico del procesamiento de langostino al cual se le incorporo 1.5 densidad óptica y 3×10^8 UFC de inóculo aislado del tracto digestivo del lechón.

Para el proceso quirúrgico como anestésico disociativo, se utilizó como anestesia ketamina dosis de 3 mg/KPV vía intravenosa, evitando el estrés en el animal y realizado por dos profesionales en el área zootecnista y médico veterinario cumpliendo con los estándares de ética de manejo de animales.





Figura 06. Extracción de muestras para metagenómica de lechones alimentadas con ensilado biológico de residuos de langostino con inóculo de lactobacilos benéficos del lechón 21 días de edad

La vía de aplicación del anestésico fue en la vena tibial medial, con un volumen de 2ml aplicado lentamente para evitar posibles embolias.

El proceso quirúrgico se realizó una laparotomía abierta, las muestras fueron tomadas de estómago, intestino delgado, intestino grueso, ciego y excretas; el procedimiento de toma de muestra se ejecutó con un raspado de la mucosa de todos los órganos mencionados con isópos estériles previamente autoclavados y por rayos ultra violeta por 15 minutos, la muestra fue conservada en tubos falcon de 50ml contenido con caldo Man, Roman y Sharpe (MRS) medio para bacterias ácido lácticas con un pH: 5-6 y a temperatura ambiente.

Toma de muestras de ensilado para la extracción de ADN destinado a la Metagenómica

Acondicionada a protocolo de la extracción de ADN para metagenómica de suelo para todas las muestras.



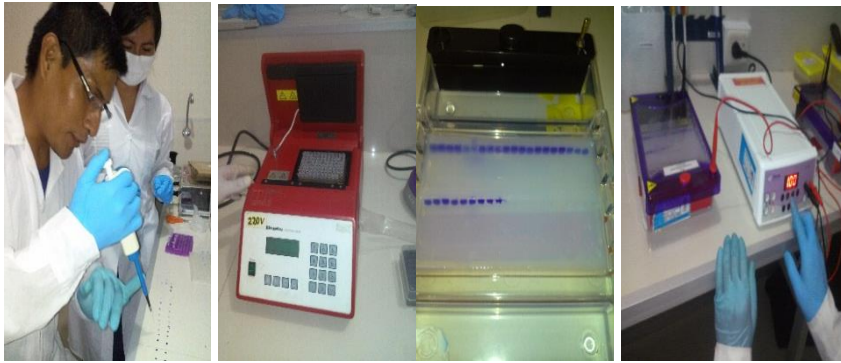


Figura 07. Extracción del ADN para metagenomica de lechones alimentadas con ensilado biológico de residuos de langostino con inoculo de lactobacilos benéficos del lechón 21 días de edad

La migración del amplicon de ADN, se realizó en gel agarosa 1.5% para la electroforesis que muestra la amplificación del gen 16 SrRNA bacteriano.

Muestra en el termociclador Resultados: columna 1: código H: banda fuerte positiva; columna 2: código E: ausencia negativo; columna 3: código L: ausencia negativo; columna A: ausencia negativo.

Preparación de muestras para la extracción de ADN

Los amplicones de conservaron a -20°C.

Muestra De ADN Prepara Para La Metagenomica

Conservación de ADN: Se re suspendió el pellet utilizando T.E. a pH. 8 10/1 a 65°C.

Las muestras fueron conservadas a -4°C hasta su utilización, Microorganismos predominantes según Metagenomica del Alimento, estomago, intestino y excretas de lechones alimentadas con ensilado biológico de residuos de langostino con inoculo de lactobacilos benéficos del lechón 21 días de edad

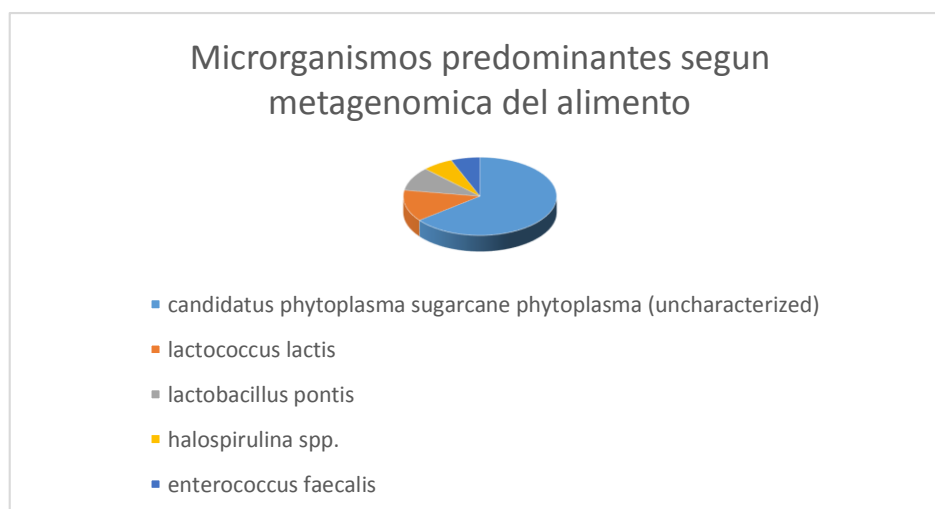


Figura 08 Genero de bacterias encontradas en el alimento utilizando en lechones alimentadas con EB de residuos de langostino con inculo de lactobacilos benéficos del lechón 21 días de edad

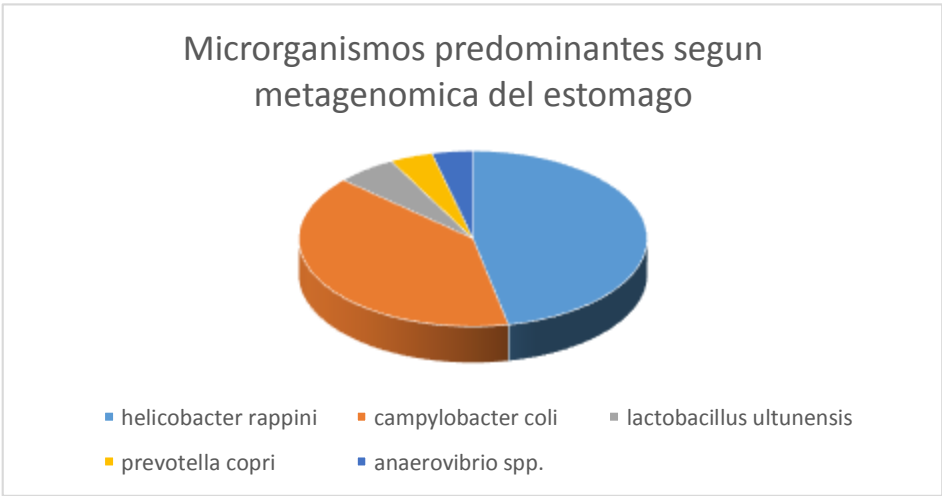


Figura 09 genero de bacterias encontradas en el estomago de lechones alimentadas con EB de residuos de langostino con inculo de lactobacilos benéficos del lechón 21 días de edad

dominates alimento - estomago				dominates estomago-intestino				dominates Intestino-colon			
bacteria	cantidad			bacteria	cantidad			bacteria	cantidad		
acinetobacter soli	0.771	FA	FE	helicobacter rappini	37.378	FE	FL	dialister succinatiphilus	4.178	FL	FH
bacillus sp.	1.158	FA	FE	bifidobacterium sp.	0.315	FE	FL	acetitomaculum ruminis	0.303	FL	FH
candidatus phytoplasr	35.118	FA	FE	lachnobacterium sp.	0.152	FE	FL	acetivibrio spp.	0.119	FL	FH
clostridium disporicur	0.275	FA	FE					bifidobacterium choerinum	0.188	FL	FH
corynebacterium cani:	0.444	FA	FE					blautia ruminococcus obeum	0.482	FL	FH
dialister succinatiphilu	0.181	FA	FE					bulleidia spp.	0.181	FL	FH
halospirulina spp.	3.530	FA	FE					clostridium sp.	0.635	FL	FH
staphylococcus epider	0.444	FA	FE					dialister spp.	0.172	FL	FH
								dialister succinatiphilus	3.016	FL	FH
								eubacterium cellulosolvens	0.474	FL	FH
								eubacterium coprostanoligei	0.588	FL	FH
								eubacterium rectale	0.591	FL	FH
								eubacterium sp.	0.558	FL	FH
								fusicatenibacter saccharivora	0.360	FL	FH
								lactobacillus delbrueckii	0.559	FL	FH
								lactobacillus pontis	0.433	FL	FH
								oribacterium sp.	2.447	FL	FH
								oscillospira spp.	0.333	FL	FH
								ruminococcus sp.	1.142	FL	FH
								ruminococcus sp.	0.636	FL	FH
								succinivibrio spp.	0.288	FL	FH

Figura 10. Bacterias predominantes obtenidas mediante metagenomica repetida en dos regiones, en el estómago, intestino delgado y ciego del aparato digestivo de lechones alimentadas con EB de residuos de langostino con inculo de lactobacilos benéficos del lechón 21 días de edad

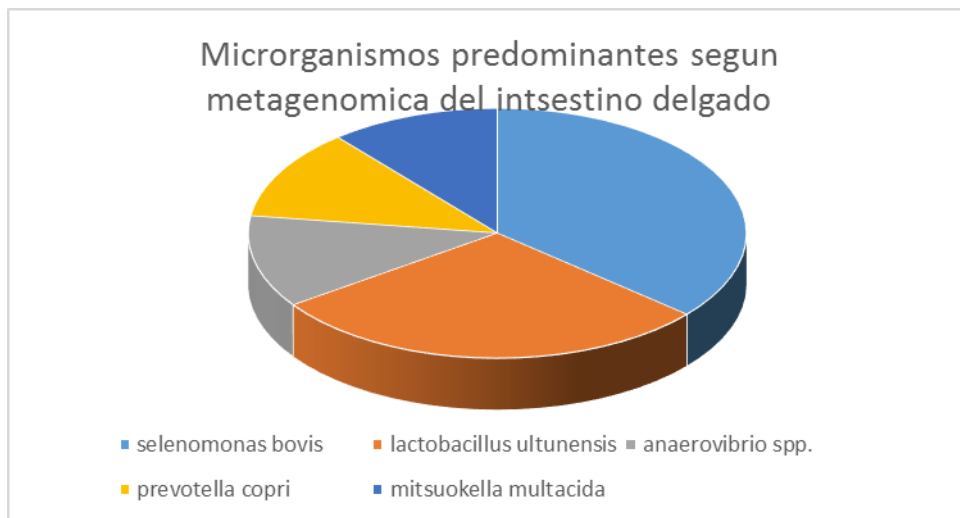


Figura 11 genero de bacterias encontradas en el intestino delgado de lechones alimentadas con ensilado biológico de residuos de langostino con inóculo de lactobacilos benéficos del lechón 21 días de edad

Microrganismos predominantes según Metagenomica excretas de lechones alimentadas con ensilado biológico de residuos de langostino con inóculo de lactobacilos benéficos del lechón 21 días de edad

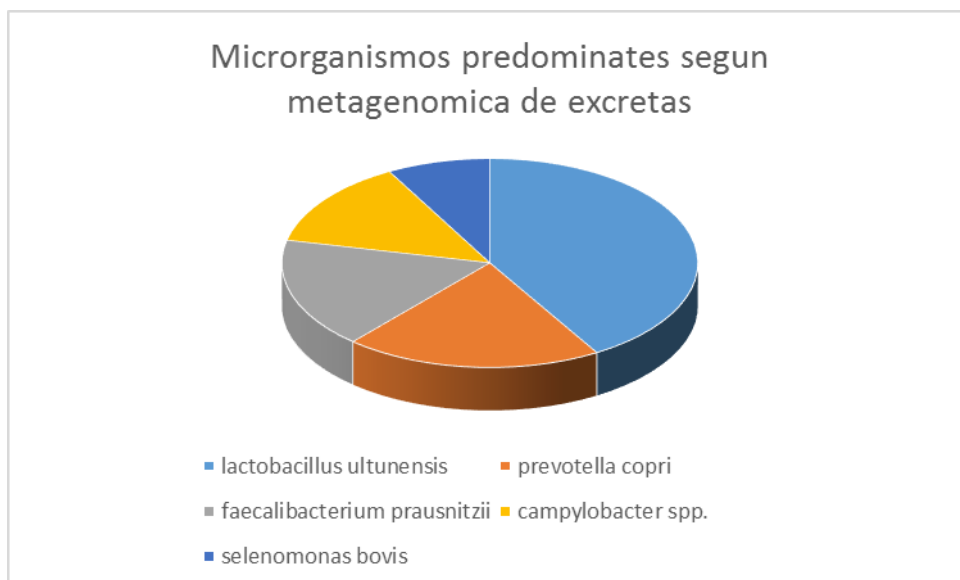


Figura 12 genero de bacterias encontradas en el excremento de lechones alimentadas con ensilado biológico de residuos de langostino con inóculo de lactobacilos benéficos del lechón 21 días de edad

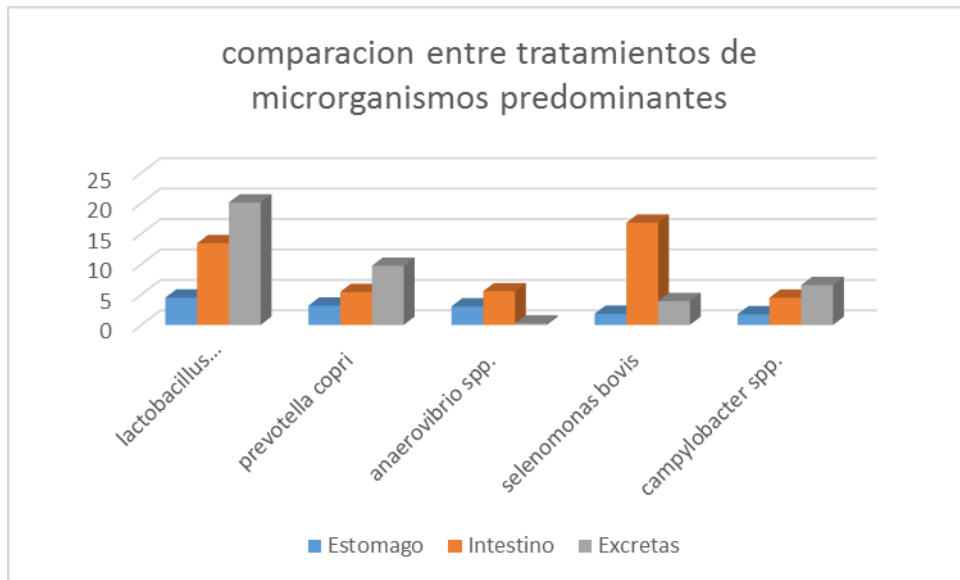


Figura 13 comparativo de genero de bacterias encontradas en el estomago intestino y excretas de lechones alimentadas con ensilado biológico de residuos de langostino con inculo de lactobacilos benéficos del lechón 21 días de edad

dominates Estomago-Intestino-colon					dominates Alimento-Estomago-Intestino-colon					dominates Estomago-colon				
bacteria	cantidad				bacteria	cantidad				bacteria	cantidad			
<i>campylobacter coli</i>	31.881	FE	FL	FH	<i>lactobacillus ultunensis</i>	20.126	FA	FE	FL	FH	<i>coprococcus spp.</i>	0.208	FE	FH
<i>anaerovibrio sp.</i>	2.574	FE	FL	FH	<i>campylobacter spp.</i>	6.554	FA	FE	FL	FH				
<i>anaerovibrio sp.</i>	0.120	FE	FL	FH	<i>clostridium spp.</i>	2.147	FA	FE	FL	FH				
<i>anaerovibrio spp.</i>	5.533	FE	FL	FH	<i>faecalibacterium prausnitzii</i>	8.296	FA	FE	FL	FH				
<i>blautia producta</i>	0.528	FE	FL	FH	<i>lactobacillus mucosae</i>	0.806	FA	FE	FL	FH				
<i>blautia spp.</i>	0.831	FE	FL	FH	<i>lactobacillus ultunensis</i>	13.424	FA	FE	FL	FH				
<i>campylobacter coli</i>	0.473	FE	FL	FH	<i>lactococcus lactis</i>	7.107	FA	FE	FL	FH				
<i>eubacterium ruminantium</i>	3.047	FE	FL	FH	<i>megaspheera elsdeni</i>	3.938	FA	FE	FL	FH				
<i>eubacterium spp.</i>	2.717	FE	FL	FH	<i>prevotella brevis</i>	3.466	FA	FE	FL	FH				
<i>faecalibacterium spp.</i>	1.027	FE	FL	FH	<i>prevotella copri</i>	9.717	FA	FE	FL	FH				
<i>gloeobacter spp.</i>	0.880	FE	FL	FH	<i>prevotella spp.</i>	1.642	FA	FE	FL	FH				
<i>hespellia porcina</i>	0.509	FE	FL	FH	<i>roseburia faecis</i>	4.058	FA	FE	FL	FH				
<i>lactobacillus crispatus</i>	1.079	FE	FL	FH	<i>selenomonas bovis</i>	16.786	FA	FE	FL	FH				
<i>lactobacillus equicursoris</i>	0.551	FE	FL	FH										
<i>mitsuokella jalaludinii</i>	1.422	FE	FL	FH										
<i>mitsuokella multacida</i>	5.129	FE	FL	FH										
<i>paraprevotella spp.</i>	1.329	FE	FL	FH										
<i>phascolarctobacterium sucu</i>	2.007	FE	FL	FH										
<i>prevotella sp.</i>	0.798	FE	FL	FH										
<i>roseburia intestinalis</i>	3.524	FE	FL	FH										
<i>ruminococcus spp.</i>	0.603	FE	FL	FH										
<i>tannerella spp.</i>	0.495	FE	FL	FH										

Figura 14. Bacterias predominantes obtenidas mediante metagenomica repetida en tres regiones, estómago, intestino delgado y ciego del aparato digestivo de lechones alimentadas con ensilado biológico de residuos de langostino con inculo de lactobacilos benéficos del lechón 21 días de edad

Resultados Y Discusiones, de metagenomica encontrada en diferentes partes del tracto digestivo de lechones alimentadas con ensilado biológico de residuos de langostino con inculo de lactobacilos benéficos del lechón 21 días de edad

Mucho autores manifiestan que existen microorganismos beneficos en el tractro

digestivo del lechón especialmente los relacionados con el genero lactobacilos los cuales tiene efecto benefico en la alimentacion de lechones (Álvarez 2004)(Figuero y Sánchez 1994)(Bertullo 2001)(Lessi 1994) (García et.al., 2012)) (Partanen y Mroz 1999)(Mroz 2003)(Gabert et al., 2000)(Sauer y Li 1994) según (Metzler y Mosenthin 2009). Manifiesta la presencia de micorrfganismos benéfico en el intestino del cerdo (Kim et.al., 2012). La alimentación de cerdos con lactobacilos mejoran la digestión (Konstantinov et.al., 2008).(Pieper et.al., 2006).

3. Determinar las características física de las excretas

Se tuvo en cuenta la presencia de cuadros diarreicos par el presente trabajo nos e presentaron cuadros diarreicos esto quiere decir que deben tener más de cinco deyecciones continuas de heces sueltas.

Se presentaros heces sueltas en mayor proporción en tratamiento testigo pero no fueron continuas a la cual no se le considera diarrea

En el caso del tratamiento T3 (20% de ensilado) se presentó entre el preimer y tercer día un lechón con heces sueltas. Pero no fueron continuas a la cual no se le considera diarrea



Figura 13 caracteristicas de las excretas de lechones alimentados con ensilado biologico de residuos de langostino con inoculo de lactobacilos benéficos del lechón
 Tabla 11 presencia o ausencia de heses sueltas en primera y segunda evaluacion de lechones alimentados con ensilado biologico de residuos de langostino con inoculo de lactobacilos benéficos del lechón

primera evaluación

Días	T0				T1				T2				T3			
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
1	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	P	A	A
2	A	A	A	P	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
3	P	A	A	P	A	A	A	A	A	A	A	A	A	P	A	A
4	A	P	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
5	P	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
7	A	A	P	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
8	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
9	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
10	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
11	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
12	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
13	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
14	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
15	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A

Segunda evaluación

Días	T0				T1				T2				T3			
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
1	A	A	P	A	A	A	A	A	A	A	A	A	P	P	A	P
2	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
3	P	A	P	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
4	A	P	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
5	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
7	P	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
8	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
9	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
10	A	P	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
11	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
12	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
13	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
14	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
15	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A

Presencia P
Ausencia A

Observaciones Primera horas de la mañana

RESULTADOS Y DISCUSIONES de presencia o ausencia de heses sueltas en primera y segunda evaluacion de lechones alimentados con ensilado biologico de residuos de langostino con inculo de lactobacilos benéficos del lechón

Durante la fases de tratamiento tanto para la etapa de adaptación como fase experimental no se presentaron cuadros diarreicos siendo muy común en esta etapa según (Pluske et al., 2003). El cambio de alimentación origina este cuadro según (Sorza, 2003; SENA, 2003; Córdova, 1993; Castillo 2000)

4. Valoración y Caracterizar la composición química de las dietas y las excretas de los tratamientos, utilizada en lechones (*Sus escrofa domesticus*), usando tres niveles 5%, 10% y 15%) de ensilado con el inóculo de 1%, 1.5% y 2% microorganismos cultivados, aislados y caracterizados mediante metagenómica, en ensilado biológico de residuos (*Litopenaeus vannamei*)

La importancia del estudio radica en que se utilizará material de desecho, que constituye un problema ambiental, pero con valor nutritivo a través de un proceso de ensilado biológico con la utilización de microorganismos naturales de la misma especie animal, mejorando su valor nutritivo, digestibilidad, y utilizarlo como un insumo alternativo para la alimentación lechones de destete.

Materiales y Método, Material Biológico: setena y dos lechones (*Sus escrofa*) de 21 días de edad en fase de destete de la raza Landrace y Yorkshire, 50% y 50% de Belga de la granja de la FCA de la UNT, del departamento de Tumbes, Perú. Los materiales para la preparación del yogurt: Leche, microorganismos naturales aislados del tracto digestivo, los materiales para la instalación: 04 jaulas una por tratamiento, desparasitadores, repelentes, vacunas. Los insumos para las dietas: Como materia prima se utilizaron restos del procesamiento del congelado de *P. vannamei*, inóculo bacterias del tracto digestivo del lechón de 4 semanas de edad, *Enterococcus hirae* ATCC 9790, *Lactobacillus brevis* ATCC 367, *Lactobacillus johnsonii* NCC 533, *Pediococcus pentosaceus* ATCC 25745), melaza de caña de azúcar, soya, harina de maíz, polvillo de arroz, pasta de algodón, sal común, sal mineral, grasas, aditivos.

Ubicación del área de estudio: Centro de Producción Pecuaria, Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Tumbes, Perú.

Tipo de investigación: Experimental clásico; Diseño Experimental clásico: Diseño completamente aleatorizado (DCA), con cuatro tratamientos y tres repeticiones.

Caracterización química del ensilado biológico, de las dietas utilizada así como los

excrementos correspondientes a las dietas: Se tomaron 100 gramos de muestra para análisis respectivos, realizados en el Laboratorio de Nutrición Animal Facultad de Ciencias Agrarias Universidad Nacional de Tumbes y laboratorio de Química de la Universidad Nacional de Piura.

Métodos. Determinación de Cenizas por incineración única; Proteína cruda: Kjeldhal; Extracto etéreo: Soxhlet; Fibra cruda, Gravimétrico con ácido-álcali (H.)

Preparación de muestras de alimento para los lechones con la finalidad de extraer microorganismos del tracto digestivo y excremento de los lechones.



Figura 01, alimento preparado y caracterización bromatológica del alimento con ensilado biológico de residuos de langostino con inóculo de lactobacilos benéficos del lechón para la alimentación de lechones

Caracterización bromatológica del ensilado biológico por análisis proximal.

Se realizó el muestreo del ensilado, se obtuvieron 100 gr. aproximados de muestra de la cual se determinó la materia seca por el método de deshidratación por estufa.

Después de obtener el peso inicial se lleva a 73 °C por 48 hora, para tener el peso final, obtenido la materia seca en % $\text{peso final} / \text{peso inicial} \times 100$, obteniendo valores de 27% a 35% de MS

Determinación de cenizas, por el método de calcinación por mufla, se coloca la muestra obtenidas de la determinación de la materia seca, en crisoles los cuales han sido lavados secados y pesados obteniendo el peso inicial, se coloca en la mufla y llevado a 900 °c por 5 horas, se día enfriar hasta obtener el peso final, de la cual se obtuvo la ceniza en función a $\text{peso final} / \text{peso inicial} \times 100$.obteniendo porcentajes de 5 a 13%.

Muestras de Cenizas

materia seca alimento					materia seca alimento				
t0	t1	t2	t3		t0	t1	t2	t3	
34.56	35.3333	33.51	33.48		33.8972	38.957	38.957	33.8972	
84.93	78.54	77.81	81.78		99.32	89.65	91.65	88.21	
80.26	73.95	71.46	73.62		92.58	83.51	83.51	78.57	
50.37	43.2067	44.3	48.3		65.4228	50.693	52.693	54.3128	
45.7	38.6167	37.95	40.14		58.6828	44.553	44.553	44.6728	
4.67	4.59	6.35	8.16		6.74	6.14	8.14	9.64	
90.7286083	89.3766476	85.6659142	83.1055901		89.6977812	87.8878741	84.5520278	82.2509611	
453.780361	452.014034	425.139523	398.886606						
90.7560722	90.4028068	85.0279047	79.7773213						

materia seca alimento					materia seca alimento					materia seca alimento				
t0	t1	t2	t3		t0	t1	t2	t3		t0	t1	t2	t3	
33.4785	35.3333	35.3333	33.4845		32.2704	33.843	38.957	38.957		34.4377	34.9477	35.3333	33.843	
79.26	78.54	80.64	76.34		72.724	84.32	91.65	70.6314		71.996	81.85	80.54	70.873	
76.19	73.95	73.82	69.48		68.7758	81.22	83.51	62.0473		68.1724	77.87	73.95	62.2222	
45.7815	43.2067	45.3067	42.8555		40.4536	50.477	52.693	31.6744		37.5583	46.9023	45.2067	37.03	
42.7115	38.6167	38.4867	35.9955		36.5054	47.377	44.553	23.0903		33.7347	42.9223	38.6167	28.3792	
3.07	4.59	6.82	6.86		3.9482	3.1	8.14	8.5841		3.8236	3.98	6.59	8.6508	
93.2942346	89.3766476	84.9470387	83.9927197		90.2401764	93.8585891	84.5520278	72.8989342		89.8195605	91.5142754	85.4225148	76.6384013	

grasa					grasa				
ensilado	t0	t1	t2	t3	ensilado	t0	t1	t2	t3
34.56	31.76	32.67	37.21	31.52	34.56	37.56	36.27	35.57	37.56
87.62	69.86	82.81	85.81	59.36	87.62	83.93	87.81	77.81	83.22
80.56	65.97	77.36	80.89	52.95	80.56	79.59	83.36	73.16	78.45
53.06	38.1	50.14	48.6	27.84	53.06	46.37	51.54	42.24	45.66
46	34.21	44.69	43.68	21.43	46	42.03	47.09	37.59	40.89
7.06	3.89	5.45	4.92	6.41	7.06	4.34	4.45	4.65	4.77
86.6943083	89.7900262	89.1304348	89.8765432	76.9755747	86.6943083	90.6405003	91.3653924	88.9914773	89.5532194
14.12	8.23	9.9	9.57	11.18					
7.06	4.115	4.95	4.785	5.59					

Determinación de la materia seca del alimento y con detector de humedad.

Ensilado 64.69 % de materia humedad

Alimento T1 con ensilado 13.21% de humedad

Alimento T3 con ensilado 17.54% de humedad

Figura 03determinación bromatológica ceniza del alimento con ensilado biológico de residuos de langostino con inóculo de lactobacilos benéficos del lechón para la alimentación de lechones

análisis excremento													
blanco	rojo	morado	verde		blanco	rojo	morado	verde		blanco	rojo	morado	verde
70.6705	114.122	223.1834	27.7482		165.125	275.35	263.1834	217.7482		311.6705	284.122	333.1834	237.7482
20.4157	38.0015	47.6885	8.775		19.21	37.56	46.31	67.32		18.32	35.14	45.98	36.31
50.2548	76.1205	175.4949	18.9732		48.352	66.23	81.752	60.51		95.278	77.351	99.56	72.31
71.1114256	66.70098666	78.6325954	68.3763271		29.282059	24.0530234	31.0627494	27.7889783		30.5701053	27.2245725	29.8814407	30.414531
130.96359	117.9785826	139.576786	126.579836										
43.65453	39.32619421	46.5255952	42.1932788										

cenizas	crisoles	muestra +cri	muestra	mustra crisol	% ceniza
1	39.8025	46.56	6.7575	40.7573	0.9548
2	35.3892	46.257	10.8678	36.5145	1.1253
3	36.5575	37.4828	0.9253	36.6957	0.1382
4	38.2877	39.3837	1.096	38.4353	0.1476
5	36.571	40.183	3.612	37.0125	0.4415
6	40.008	42.146	2.138	40.287	0.279
					13.0265835

ceniza muestras dietas						% ceniza
t0	41.5423	36.1606	-5.3817	36.3631	-5.1792	96.2372485
t1	48.8591	44.7512	-4.1079	44.9456	-3.9135	95.267655
t1	42.264	35.3558	-6.9082	35.671	-6.593	95.4373064
t2	54.4575	39.7435	-14.714	40.4619	-13.9956	95.1175751
t3	49.869	44.8592	-5.0098	45.1107	-4.7583	94.9798395
t3	52.9871	41.9226	-11.0645	42.4935	-10.4936	94.8402549
						5.15974513

Figura 05 determinación bromatológica del excremento de lechones alimentados con ensilado biológico de residuos de langostino con inóculo de lactobacilos

- Estimar el consumo del alimento, la digestibilidad alimenticia, la conversión alimenticia y el mérito económico por los lechones (*Sus escrofa domesticus*), con los niveles de 5%, 10% y 15% de ensilado con inóculo de microorganismos cultivados, aislados y caracterizados mediante metagenómica del tracto digestivo del lechón.

CONSUMOS DE ALIMENTO RESUMEN							
fechas		05/05/2015	12/05/2015	15/05/2015	20/05/2015	22/05/2015	30/05/2015
cerdos	primer peso	7.6	4.5	7.6	8.6	7.4	11.5
	segundo peso	5.3	6	6.4	7.6	8.6	8.5
	tercer peso	4.0	7.2	4.5	5	5.8	9.5
	Subtotal	5.6	5.9	6.2	7.1	7.3	9.8
fechas		05/05/2015	12/05/2015	15/05/2015	20/05/2015	22/05/2015	30/05/2015
cerdos	primer peso	8.45	4.1	7.4	4.2	8.2	6.5
	segundo peso	6.8	7.9	6.9	7.8	4.4	10.2
	tercer peso	3.3	7.2	4	7.4	7.8	9.5
	Subtotal	6.2	6.4	6.1	6.5	6.8	8.7
fechas		05/05/2015	12/05/2015	15/05/2015	20/05/2015	22/05/2015	30/05/2015
cerdos	primer peso	7.95	8.5	8.4	5	7.6	9.5
	segundo peso	7.25	6.8	6.3	9.6	10.2	11
	tercer peso	4.9	5.8	5	7.5	5	7
	Subtotal	6.7	7.0	6.6	7.4	7.6	9.2
fechas		05/05/2020	12/05/2015	15/05/2015	20/05/2015	22/05/2015	30/05/2015
cerdos	primer peso	5.25	6.4	4.6	7	6	13
	segundo peso	4.25	5.3	6	10.6	6.8	10
	tercer peso	8.65	9.5	9	5.8	10.2	8.5
	Subtotal	6.1	7.1	6.5	7.8	7.7	10.5

Figura 06 Determinación consumo de alimento de lechones alimentados con ensilado biológico de residuos de langostino con inóculo de lactobacilos benéficos del lechón. Primer lote

fechas			ICA		
alimento	del 5 al 7 de mayo aumento en kg	1.4	KG ALIMENTO	Ppf-Ppi	4.2
	del 7 al 10 de mayo aumento en kg	0.7			
	del 10 al 15 de mayo aumento en kg	4			
	del 15 al 19 de mayo aumento en kg	4			
	del 19 al 22 de mayo aumento en kg	4			
	del 22 al 25 de mayo aumento en kg	4			
	del 25 al 30 de mayo aumento en kg	8			
	Promedio	26.1	6.525 X=	1.553571429	
alimento	del 5 al 7 de mayo aumento en kg	1.4	KG ALIMENTO	Ppf-Ppi	2.5
	del 7 al 10 de mayo aumento en kg	0.7			
	del 10 al 15 de mayo aumento en kg	4			
	del 15 al 19 de mayo aumento en kg	1			
	del 19 al 22 de mayo aumento en kg	4			
	del 22 al 25 de mayo aumento en kg	4			
	del 25 al 30 de mayo aumento en kg	2.5			
	Promedio	17.6	4.4 X=	1.76	
alimento	del 5 al 7 de mayo aumento en kg	0.7	KG ALIMENTO	Ppf-Ppi	2.5
	del 7 al 10 de mayo aumento en kg	0.3			
	del 10 al 15 de mayo aumento en kg	4			
	del 15 al 19 de mayo aumento en kg	1.5			
	del 19 al 22 de mayo aumento en kg	4			
	del 22 al 25 de mayo aumento en kg	4			
	del 25 al 30 de mayo aumento en kg	4			
	Promedio	18.5	4.625 X=	1.85	
alimento	del 5 al 7 de mayo aumento en kg	0.8	KG ALIMENTO	Ppf-Ppi	4.4
	del 7 al 10 de mayo aumento en kg	1.5			
	del 10 al 15 de mayo aumento en kg	4			
	del 15 al 19 de mayo aumento en kg	4			
	del 19 al 22 de mayo aumento en kg	4			
	del 22 al 25 de mayo aumento en kg	6			
	del 25 al 30 de mayo aumento en kg	7.2			
	Promedio	27.5	6.875 X=	1.5625	

Figura 07Determiacion consumo de alimento de lechones alimentados con ensilado biológico de residuos de langostino con inculo de lactobacilos benéficos del lechón. Segundo lote

PESO DE LOSA LECHONES PROMEDIO															
cerdos T1	fechas	25/07/2015	26/07/2015	28/07/2015	30/07/2015	02/08/2015	06/08/2015	10/08/2015	15/08/2015	18/08/2015	21/08/2015	25/08/2015	27/08/2015	31/08/2015	peso final - peso inicial
	primer peso	7	7.5	7.9	9.5	10.6	10.8	11.3	13	13.7	14.6	16.3	18.4	19	12.0
	segundo peso	6.8	7.1	7.4	8.8	10.2	10.4	10.9	12.6	13.3	14	15.4	17.5	18.2	11.4
	tercer peso	7.2	7.4	7.7	9	10.2	10.5	11	12.6	13.8	14.5	15.8	17	18.5	11.3
	Subtotal	7.0	7.3	7.7	9.1	10.3	10.6	11.1	12.7	13.6	14.4	15.8	17.6	18.6	11.57
cerdos T3	fechas	25/07/2015	26/07/2015	28/07/2015	30/07/2015	02/08/2015	06/08/2015	10/08/2015	15/08/2015	18/08/2015	21/08/2015	25/08/2015	27/08/2015	31/08/2015	peso final - peso inicial
	primer peso	7.8	8.3	8.5	8.6	9.5	10.5	11	12.5	13	13.6	14.5	15.9	16.8	9.0
	segundo peso	8.8	7	7	8.2	9.2	10	11.5	13	13.8	15.5	18	20.3	21.5	12.7
	tercer peso	8	8.5	8.7	9	9.5	10.2	10.8	13.3	14.4	14.8	15.5	17.5	18.6	10.6
	Subtotal	8.2	7.9	8.1	8.6	9.4	10.2	11.1	12.9	13.7	14.6	16.0	17.9	19.0	10.77
cerdos T2	fechas	25/07/2015	26/07/2015	28/07/2015	30/07/2015	02/08/2015	06/08/2015	10/08/2015	15/08/2015	18/08/2015	21/08/2015	25/08/2015	27/08/2015	31/08/2015	peso final - peso inicial
	primer peso	6.2	6.5	6.8	11	12.9	13.5	13	13	14.5	15.2	16.5	18.5	19.8	13.6
	segundo peso	6.6	6.8	7	7.2	8.9	9	12	12.8	14	16.2	18	21.3	21.9	15.3
	tercer peso	7.5	7.9	8	8.4	9	9	9	11	12	12	14	15	15.3	7.8
	Subtotal	6.76666667	7.06666667	7.26666667	8.86666667	10.26666667	10.5	11.33333333	12.26666667	13.5	14.46666667	16.16666667	18.26666667	19	12.23
cerdos T0	fechas	25/07/2015	26/07/2015	28/07/2015	30/07/2015	02/08/2015	06/08/2015	10/08/2015	15/08/2015	18/08/2015	21/08/2015	25/08/2015	27/08/2015	31/08/2015	peso final - peso inicial
	primer peso	8.6	8.6	8.8	8.9	9	8.9	12	15	15.5	16	18	20	20.5	11.9
	segundo peso	6.0	6.3	6.5	7.2	8.2	10.7	9	9.5	10	11	17	19	19.8	13.8
	tercer peso	8.0	8.1	8.4	9.9	10	11.8	13	14	15.5	16	12	13	13	5.0
	Subtotal	7.6	7.8	7.9	8.6	9.4	10.4	11.3	12.8	13.7	14.3	15.7	17.3	17.8	10.2

Figura 08 determinación consumo de alimento de alimento de lechones alimentados con ensilado biológico de residuos de langostino con inóculo de lactobacilos benéficos del lechón. Primer lote

fechas				
alimento T1	del 25 al 27 de julio aumento en kg	1.4		ICA KG ALIMENTO Ppf-Ppi 7.775 X=
	del 28 al 30 de Julio aumento en kg	1.7		
	del 31 al 3 de agosto aumento en kg	4		
	del 04 al 07 de agosto aumento en kg	4		
	del 08 al 11 de agosto aumento en kg	4		
	del 12 al 15 de agosto aumento en kg	4		
	del 16 al 23 de agosto aumento en kg	4		
	del 24 al 31 de agosto aumento en kg	8		
	Promedio	31.1		
2.016570605				
alimento T3	del 25 al 27 de julio aumento en kg	1.4		ICA KG ALIMENTO Ppf-Ppi 5.65 X=
	del 28 al 30 de Julio aumento en kg	1.7		
	del 31 al 3 de agosto aumento en kg	4		
	del 04 al 07 de agosto aumento en kg	1		
	del 08 al 11 de agosto aumento en kg	4		
	del 12 al 15 de agosto aumento en kg	4		
	del 16 al 23 de agosto aumento en kg	4		
	del 24 al 31 de agosto aumento en kg	2.5		
	Promedio	22.6		
1.574303406				
alimento T2	del 25 al 27 de julio aumento en kg	0.7		ICA KG ALIMENTO Ppf-Ppi 5.875 X=
	del 28 al 30 de Julio aumento en kg	1.3		
	del 31 al 3 de agosto aumento en kg	4		
	del 04 al 07 de agosto aumento en kg	1.5		
	del 08 al 11 de agosto aumento en kg	4		
	del 12 al 15 de agosto aumento en kg	4		
	del 16 al 23 de agosto aumento en kg	4		
	del 24 al 31 de agosto aumento en kg	4		
	Promedio	23.5		
1.440735695				
alimento T0	del 25 al 27 de julio aumento en kg	0.8		ICA KG ALIMENTO Ppf-Ppi 7.875 X=
	del 28 al 30 de Julio aumento en kg	1.5		
	del 31 al 3 de agosto aumento en kg	4		
	del 04 al 07 de agosto aumento en kg	4		
	del 08 al 11 de agosto aumento en kg	4		
	del 12 al 15 de agosto aumento en kg	4		
	del 16 al 23 de agosto aumento en kg	6		
	del 24 al 31 de agosto aumento en kg	7.2		
	Promedio	31.5		
2.321867322				

Figura 9 Determinación del índice de conversión de alimento de lechones alimentados con ensilado biológico de residuos de langostino con inóculo de lactobacilos benéficos del lechón.

Diseño y construcción de los compartimientos. Para acondicionamiento del lugar, se utilizó un ambiente cerrado, con ventanales cubiertos con malla raschel de 32 m², se instalaron cuatro jaulas para lechón, de 4 m de largo y 2 m de ancho para cada una de ellas, y un pequeño cerco perimétrico de 50 cm de alto. Actividades de crianza diaria. Se tomó peso de los animales, del alimento y de las excretas diarios, limpieza, alimentación, una vez al día; se revisó el estado de los animales constantemente (Figura 1e), realizando el manejo de pisos, bebederos y comederos; se lavó y desinfectó manualmente, y revisión diaria de los animales, suministrándose agua sola; se vacunó contra cólera porcina, Se desparasitó con ivermectina y albendazol pos destete; se anotó en el registro la cantidad de alimento consumido en función a los residuos recogidos del día siguiente, Se realizó manejo de limpieza dentro y fuera del corral, observación diarias a fin de observar alteraciones de las excretas (Figura 1f)

Los lechones fueron nacidos en la granja de la FCA de la UNT, Tumbes, de 21 días de edad con un peso aproximado de 6 Kg al momento de destete.

Tratamiento en estudio. Se diseñaron 4 grupos experimentales (tratamientos); se evaluó el comportamiento de peso diario pos destete por 35 días con una dieta base con 18% de proteína a los que se les incorporó tres proporciones: 10%, 15% y 20% de ensilado biológico de residuos de langostino en forma húmeda, molida y corregida. (Tabla 1).

Tabla 1. Esquema de los tratamientos en estudio, que corresponden a niveles de ensilado biológico a base de residuos de langostino con inóculo de lactobacilos benéficos del lechón, para los lechones destetados.

Factor	Niveles EB	Código	Combinaciones
Etapa de destete	00 %	T0	Inclusión EB de residuo de langostino con microorganismos benéficos (00%).18%P.T.
	10%	T1	Inclusión EB de residuo de langostino con microorganismos benéficos (10%).18%P.T.
	15%	T2	Inclusión EB de residuo de langostino con microorganismos benéficos (15%).18%P.T.
	20%	T3	Inclusión EB de residuo de langostino con microorganismos benéficos (20%).18%P.T.

EB: Ensilado biológico

Tabla 2. Dietas base de Lactación, de los lechones alimentados con EB

Ración lactación EB	0%	10%	15%	20%
Ingredientes	Cantidad %	Cantidad %	Cantidad %	Cantidad %
Grano de Maíz	39,24	39,24	39,24	39,24
H. De Algodón - Slvnt 44%	3,00	3,00	3,00	3,00
Aceite	0,50	0,50	0,50	0,50
Polvillo de Arroz	23,71	23,71	23,71	23,71
H. De Soja -48%	16,50	16,50	16,50	16,50
H. De Pescado, AAFCO	5,00	5,00	5,00	5,00
Concha de Ostra	1,00	1,00	1,00	1,00
Sal común	0,50	0,50	0,50	0,50
Pre mezcla Vitamínico	0,05	0,05	0,05	0,05
Pre mezcla Mineral	0,50	0,50	0,50	0,50
Melaza de Caña	10,00	10,00	10,00	10,00
Harina ensilado residuo langost.	0,00	10,00	15,00	20,00
TOTAL	100,00	110,00	115,00	120,00

*EB ensilado Biológico

WUFFF DA (2002)

Croquis del experimento. Durante el destete, la distribución se realizó en jaulas prediseñadas, colocada en cuatro corrales de 8 m² cada una (Figura 1a)

Establecimiento y conducción del experimento. Para la elaboración del yogurt y solución madre, en un olla se calentó 1 l de leche fresca, en movimiento hasta alcanzar unos 80 C°, luego se dejó enfriar a 40 C°, moviéndolo (homogenización), y luego se agregó los inóculos lechon, *Enterococcus hirae* ATCC 9790, *Lactobacillus brevis* ATCC 367, *Lactobacillus johnsonii* NCC 533, *Pediococcus pentosaceus* ATCC 25745),. (Figura 1b); se dejó reposar y se compartió en 4 depósitos de 250 ml. Para el yogurt se pasteuriza la leche hasta 80 C°, se homogeniza, agitándolo mientras se enfría hasta 60 C°, se agregó un frasco de la solución madre anterior y se dejó incubar en recipientes de tecnopol por 24 h; se llevó a refrigeración para evitar se deteriore. El ensilado Biológico se elaboró según método de Toypoco (2006). El proceso para obtención del ensilado biológico fue: lavado, cocción, enfriado, molienda, mezcla, fermentación o incubación, y producto final.

La determinación de niveles y formulación de dietas, se realizó según requerimientos, de etapas de inicio. Se consideró una dieta base (18% de proteína) a las que se les

incorporo proporciones, en niveles de 10%, 15% y 20% de ensilado biológico de residuos del procesamiento de langostino (Figura 1c y 1d) en forma húmeda y molida; se reconoció el requerimiento de proteína para cada etapa fisiológica. Para formulación de las dietas se utilizó el método del tanteo, corregida por el cuadrado de Pearson (Córdova 1993) y una plantilla de hoja de cálculo española WuffF (2002). El alimento ofrecido (Figura 1g) fue de a libitum inicialmente $\frac{1}{2}$ kg/día hasta 2 kg/día por cada lechón.



Figura 10, jaula 1a, lactobacilos benéficos 1b, ensilado 1c y 1d, deposiciones 1e, alimento mezcla 1f, dietas 1g, manejo 1h, de lechones alimentados con ensilado biológico de residuos de langostino con inóculo de lactobacilos benéficos del lechón.

Actividades de crianza de los lechones. Se tomó peso diario de los animales, peso diario de los residuos de alimento, y peso de las excretas, limpieza, alimentación, una vez al día; se revisó el estado de los animales constantemente (Figura 1h), realizando el manejo de pisos, bebederos y comederos; se lavó y desinfectó manualmente cada semana, se suministró agua en forma continua; se vacunó contra cólera porcina y desparasitó con ivermectina a los 5 días pos destete; se anotó en el registro ocurrencias diarias la cantidad de alimento consumido y el residuo ($\frac{1}{2}$ a 2 kg/día), etc. , Se realizó manejo de limpieza dentro y fuera del corral, a fin de observar alteraciones de conducta causantes de enfermedad.

Procesamiento de datos: La unidad experimental fue un animal. Los datos fueron

registrado en una hoja electrónica y los datos procesados con el programa estadístico EXEL; determinándose la prueba de análisis de varianza, y luego la prueba de significancia Duncan. Los datos se analizaron a un nivel de significación $\alpha = 0,05$

Resultados y Discusiones

Incrementos de peso tabla 03. En la fase pos destete de los lechones (kg) de alimentadas con ensilado biológico de residuos de langostino con inóculo de lactobacilos benéficos del lechón (EB) (NCBI 2015, Espinoza 2015, Rodriguez y Barrios 2015, Zhanget.al., 2011). El promedio del incremento de peso vivo (PV) correspondieron al tratamiento T1 10.94 kg, T0 9.75 kg, T2 9.43 kg y T3 8.57 kg. Incrementos superiores a 8.56 kg a las 8 semanas en promedio reportados por (Cadillo 2008, SENA 2003, Días et. al., 2009)

El análisis de varianza tabla 04 para incremento de PV de los lechones pos destetados alimentados con EB no se encontró efecto significativo, con un coeficiente de variación $CV = 22,9$. Con la comparación Duncan (Tabla 05) se ordenó los tratamientos de mayor a menor. En la cual los valores estadísticamente son semejantes entre sí.

Tabla 03. Incremento en peso (kg) de lechones destetados alimentadas con ensilado biológico de residuos de langostino con inóculo de lactobacilos benéficos del lechón (EB).

Etapa	Clave	R ₁	R ₂	R ₃	Promedio
Lechones destetados	T0	6,90	10,02	12,32	9,75
	T1	9,50	11,57	11,76	10,94
	T2	9,05	12,23	7,00	9,43
	T3	7,93	10,77	7,00	8,57

Tabla 04. Análisis de Varianza para incrementos de pesos (kg) de lechones destetados alimentados con EB.

Fuentes variación	GL	Suma cuad	Cuad. Medio	Fo	F 5%	F 1%	Signfic.
Tratamientos	3	8,711425	2,903808333	0,587416	4,0661	5,95	NS
Error experimental	8	39,54686	4,943358333				
Total	11	48,25829					

Coeficiente de variación: (CV)= 22,9%

Tabla 05. Duncan ($\alpha = 0,05$) para incrementos de pesos de lechones destetados (kg) alimentadas con EB.

Clave	Tratamiento	Promedio	Duncan
T0	Dieta con ensilado (0%) EB	9,75	a
T1	Dieta con ensilado (10%) EB	10,94	a
T2	Dieta con ensilado (15%) EB	9,43	a
T3	Dieta con ensilado (20%) EB	8,57	a

Consumo de alimento.

En el consumo de alimento de los lechones pos destetados durante la fase experimental, el menor consumo se presentó en el tratamiento T1, (12,88 kg). El mayor consumo se presentó en el tratamiento T0, (21,63 kg), como se indica en la Tabla 06.

El análisis de varianza (Tabla 07) los sumos de alimento total muestra efectos semejantes entre los tratamientos; con un CV= 21,26. La comparación Duncan (tabla 08) muestra el tratamiento T0 como el de mayor consumo de alimento e indica semejanza entre el grupo T0 y T1 y entre los grupos T1, T2 y T3 pero diferencias entre el tratamiento T0 con los tratamientos T2 y T3. Con el menor consumo. Estos pesos son semejantes a reportados por de los tratamientos T0 y T1 y siendo mejores los del tratamiento T2 y T3 a los consumos de 0.5136 consumos diarios equivalente a 17.976 kg en igual cantidad de días de la fase experimental reportados por (Córdova 1993, Cadillo 2008, Córdova 1993, Villena y Ruiz2002, Días et. al., 2009)

Tabla 06. Consumo de alimento kg/día de lechones destetados alimentadas con ensilado biológico de residuos de langostino con inóculo de lactobacilos benéficos del lechón (EB).

Etapas	Clave	R ₁	R ₂	R ₃	Promedio
Lechones destetados	T0	22.36	23.27	19.26	21.63
	T1	13.97	23.34	18.28	18.53
	T2	8.69	17.62	12.32	12.88
	T3	13.40	16.95	12.95	14.43

Tabla 07. Análisis de Varianza para consumo de alimento (kg) de lechones destetados alimentados con (EB).

Fuentes variación	GL	Suma cuad	Cuad. Medio	Fo	F 5%	F 1%	Signfic.
Tratamientos	3	141.7097	47.2365766	3.6744535	4.066	5.95	NS
Error experimental	8	102.84321	12.85540173				
Total	11	244.55294					

Coeficiente de variación: (CV)= 21,26%

Tabla 08. Duncan ($\alpha = 0,05$) para consumo de alimento kg/día de lechones destetados alimentadas con (EB).

Clave	Tratamiento	Promedio	Duncan
T0	Dieta con ensilado (0%) EB	21.63	a
T1	Dieta con ensilado (10%) EB	18.53	ab
T2	Dieta con ensilado (15%) EB	12.88	b
T3	Dieta con ensilado (20%) EB	14.43	b

Índice de conversión alimenticia

El índices de conversión alimenticia (ICA) de los lechones pos destetados alimentadas con EB de residuos de langostino enriquecidos con inóculos benéficos del lechón, cuyos resultados se presentan en la (Tabla 09), revelan que el tratamiento T2 son las que lograron un mejor ICA 1,387 y en el tratamiento T0 la más alta 2,375. todos los tratamientos con EB mostraron mejores ICA 2.1 a lo reportados por (Beltrán et. al., 2011, Velásquez y Pérez 2011)

El análisis de varianza de los ICA total tabla 10, muestra efectos no significativos entre tratamientos. La comparación Duncan tabla 11, de los ICA, indica significancia entre el tratamiento T0 y T2, pero semejanza entre los tratamiento T1, T2 y T3 al igual que los tratamiento T0, T1 y t3 resaltando la diferencia con el Tto. T2.

Tabla 09. Índice de conversión alimenticia (ICA) total de lechones destetados alimentadas con ensilado biológico de residuos de langostino con inoculo de lactobacilos benéficos del lechón (EB).

Etapas	Clave	R ₁	R ₂	R ₃	Promedio
Lechones destetados	T0	3.24	2.322	1.563	2.375
	T1	1.47	2.017	1.554	1.680
	T2	0.96	1.441	1.76	1.387
	T3	1.69	1.574	1.85	1.705

Tabla 10. Análisis de Varianza para Índice de conversión alimenticia (ICA) total de lechones destetados alimentadas con EB.

Fuentes variación	GL	Suma cuad	Cuad. Medio	Fo	F 5%	F 1%	Signific.
Tratamientos	3	1.5717009	0.523900306	2.1529699	4.0661805	5.95	NS
Error xperimental	8	1.9467073	0.243338417				
Total	11	3.51840825					

Tabla 11. Duncan ($\alpha = 0,05$) para el Índice de conversión alimenticia (ICA) total de lechones destetados alimentadas con EB.

Clave	Tratamiento	Promedio	Duncan
T0	Dieta con ensilado (0%) EB	2.38	a
T1	Dieta con ensilado (10%) EB	1.68	ab
T2	Dieta con ensilado (15%) EB	1.39	b
T3	Dieta con ensilado (20%) EB	1.70	ab

El Mérito económico

El mérito económico (ME) de lechones destetados alimentadas con ensilado biológico de residuos de langostino con inoculo de lactobacilos benéficos del lechón, que se muestra en la tabla 12, indica que los tratamiento T2, T3 y T1 tuvieron mejor ME equivalente a 261,45%, 219,81% y 201,61% y el T0 el de menor ME equivalente a 150,23%; El precio de venta fue de S/. 10 nuevos soles el kg de PV, y el costo de alimento es el precio de formulación independiente para cada dieta en promedio de 2.86 soles kg. La alimentación es determinante en la producción en función a los costos, al disminuirlo usando productos alternativos cuyo mérito económico sean mayores al 100% nos genera rentabilidad, en el caso de los lechones es mayor la rentabilidad que en animales adultos para el trabajo se obtuvieron rentabilidades a más de 200% (Córdova, 1993; Cadillo, 2008; Córdova, 1993; Villena, y Ruiz, 2002; Días et. al., 2009)

Tabla 12. Promedio del Mérito Económico y gasto de alimento, por tratamiento, de lechones destetados alimentadas con ensilado biológico de residuos de langostino con inóculo de lactobacilos benéficos del lechón

Tratamiento	Ingresos Por peso	Gasto alimento	ME %
T0	97.47	64.8786	150.2293
T1	109.43	54.2799	201.6091
T2	94.27	36.0560	261.4451
T3	85.67	38.9733	219.8085

Digestibilidad aparente de proteína del alimento.

La digestibilidad aparente de la proteína del alimento (%), en la alimentación de lechones destetados alimentadas con ensilado biológico de residuos de langostino con inóculo de lactobacilos benéficos del lechón, se presenta en la Figura 02 y tabla 13, muestran que los lechones de los tratamientos con EB T1 10% EB y T2 15% EB (73,42% y 71,09%), tienen mejor digestibilidad que los tratamientos T0 0% EB y T3 20% EB (69,77% y 67,82%) Digestibilidad el ensilado biológico de residuos del procesamiento de langostino son ligeramente más bajos a la digestibilidad de cerdos adultos de 80 a 90% encontrados por (Bello, 1994; Figuero y Sánchez, 1994; Balladares, 2006; Parin y Zugarramurdi, 1994; Toypoco, 2006; González et al., 2011; Sánchez y Benites, 2009; Sánchez, 2011).

El EB es muy superior al del el uso de harina de residuos de langostino que es de 35% (Balladares, 2006; Figuero y Sánchez; 1994, Parin y Zugarramurdi, 1994)

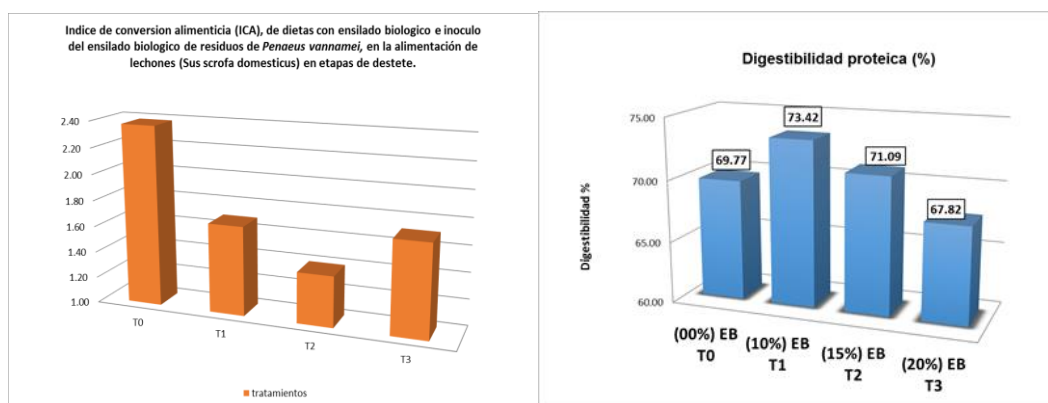


Figura 02. Índice de conversión alimenticia 2a y Digestibilidad aparente de la proteína 2b del alimento de lechones destetados alimentadas con ensilado biológico de residuos de langostino con inoculo de lactobacilos benéficos del lechón.

Tabla 13. Promedio digestibilidad, por tratamiento, de lechones destetados alimentadas con ensilado biológico de residuos de langostino con inoculo de lactobacilos benéficos del lechón

Tratamiento	Consu alim	MS alim	Consu MS	% Prot	consu prot	% excr	cant excr	ms excr	% prot	diges	% diges
T0	21.63	90.75	19.63	14.19	2.79	0.41	8.87	43.65	21.75	1.94	69.77
T1	18.53	90.40	16.75	15.00	2.51	0.47	8.71	39.33	19.50	1.84	73.42
T2	12.88	85.03	10.95	15.22	1.67	0.40	5.15	46.53	20.10	1.19	71.09
T3	14.43	79.77	11.51	15.35	1.77	0.43	6.20	42.19	21.72	1.20	67.82

El ensilado biológico de residuos de langostino enriquecidos con microorganismos naturales del tracto digestivo del lechón es utilizado como alimento, por su mejor aprovechamiento y digestibilidad, cuya composición es esencialmente el polí sacárido quitina y proteína enriquecidos con la actividad propia de microorganismos naturales de cada especie; para algunos animales como cerdos, pollos y cuyes se ha utilizado el ensilado de pescado cuya composición es esencialmente fosforo y proteínas (Berenz, 1994; Belli, 2009; Toypoco, 2006; González et al., 2007; Sánchez y Benites, 2009). Los residuos de productos pesquero procesados y fermentados industriales tienen presencia de microorganismos que favorecen la digestibilidad y son utilizados en animales (Bertullo, 2001; Casaburi, et. al., 2003; Leroy y De Vuyst, 2004; Lessi, 1990; Mendoza, 1994). Los microorganismos del genero lactbacilos tienen influencia en la digestibilidad de los alimentos (Álvarez, 2014; Parra, 2010; Pérez et. Al., 2007)

Asimismo, se ha encontrado que el uso del ensilado biológico en la alimentación de lechones no ocasionó cuadros digestivos reportados en trabajos con diferentes tipos de ensilados, como variación de la materia prima y utilización en diferentes especies de animales según (Álvarez, 2004; Figuero y Sánchez, 1994; Sánchez, 2011; Bertullo, 2001; Lessi, 1990).

En esta etapa no se manifestaron los cuadros diarreicos la cual son muy común según (Pluske et al., 2003; Bhandari et. al., 2010; Pluske et. al., 2003; Metzler y Mosenthin 2009; Córdova, 1993; Villena y Ruiz, 2002; Vergara, 2008). El cambio de alimentación en esta etapa origina este cuadro según (Sorza, 2003; SENA, 2003, Córdova, 1993; Castillo, 2000)

En la digestibilidad aparente, El uso de ensilado biológico como microorganismos naturales beneficios en la alimentación de animales jóvenes, lechones, mejoran la digestibilidad pero son menores a los de los animales adultos y evita la incidencia de infección gastrointestinal, como se reporta en diferentes trabajos utilizando ensilado biológico para la alimentación de varias especies animales (Alvares, 2004, Sánchez, 2011, Sánchez y Benites, 2009) El grado de retención varía con el contenido de materia seca de los insumos utilizados, la inclusión de ensilado biológico mejoró la digestibilidad donde T1 10% y T2 15% fue (73,42% y 71,09%), que los tratamientos T0 0% y T3 20% (69,77% y 67,82%) siendo mayores a los reportados en ensilado de pescado y la digestibilidad aparente de nitrógeno fue 57%, 62% (Bello, 1994; Figuero 1994), similar a los obtenidos por (Sánchez, 2011; Sánchez y Benites, 2009)

Conclusiones

El ensilado biológico de residuos de langostino (*P. vannamei*) con inóculo de microorganismos naturales del tracto digestivo del lechón usado en la alimentación de lechones al destete, permitió su incremento en peso, no expresó crecimiento significativo entre tratamiento; aunque en el tratamiento T1 (10% de ensilado biológico) se alcanzó mayor peso a las 8 semanas de edad.

Las mejores conversiones alimenticias El ensilado biológico de residuos de langostino (*P. vannamei*) con inóculo de microorganismos naturales del tracto digestivo del lechón usado en la alimentación de lechones al destete, se determinó que todos los

tratamientos fueron mejores que el T0 y donde el tratamiento T2 (15% EB) fue muy superior a todos.

En la etapa de lechones es mejor la respuesta existente en el mérito económico que en otras etapas donde el uso de ensilado biológico de residuos de langostino (*P. vannamei*) con inóculo de microorganismos naturales del tracto digestivo del lechón usado en la alimentación de lechones al destete baja el costo unitario de la dieta, siendo el mejor mérito económico el T2 15% de EB de uso.

El uso de El ensilado biológico de residuos de langostino (*P. vannamei*) con inóculo de microorganismos naturales del tracto digestivo del lechón usado en la alimentación de lechones al destete aumenta la digestibilidad en dietas, siendo menor esta digestibilidad que en animales adultos, el cual es inversamente proporcional al nivel de uso. No se presentaron problemas digestivos al utilizar niveles de 10%, 15% y 20% de ensilado biológico de restos del procesamiento de *P. Vannamei*.

7. Determinar los coliformes en heces de lechones lactantes durante los días 13 al 15 del nacimiento y la proporción de diarreas colibacilares durante el proceso de crianza tratados y no tratados.

Recuento de bacterias de las excretas

Tabla 28. Análisis y determinación de la presencia de *Escherichia coli* y *Salmonella* en las excretas de lechones alimentados con ensilado biológico de residuos de langostino con inóculo de lactobacilos benéficos del lechón.

presencia de <i>Escherichia coli</i>		presencia de <i>Salmonella</i>	
t1	1.2E+05	t0	1.9E+03
t0	9.0E+04	t0	7.0E+02
t1	8.0E+04	t1	1.0E+02
t0	1.6E+04	t1	0.0E+00
t3	1.6E+04	t2	0.0E+00
t3	1.0E+04	t2	0.0E+00
t2	1.0E+04	t3	0.0E+00
t2	1.0E+03	t3	0.0E+00

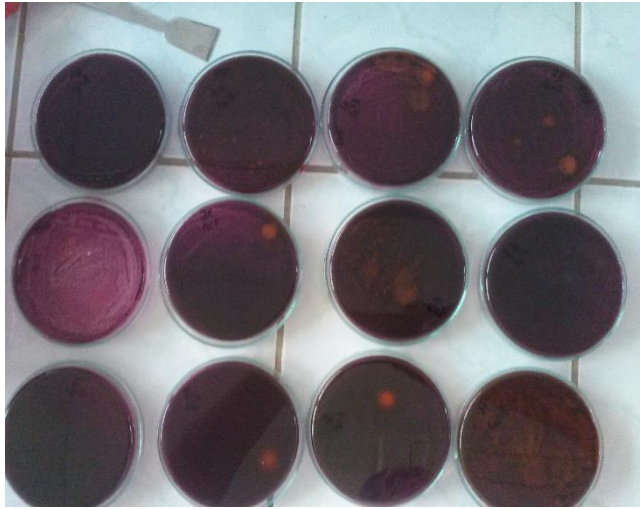


Figura 17. Determinación de la presencia de eschericha coli dilución 1/20 en las excretas de lechones alimentadas con ensilado biológico de residuos de langostino con inculo de lactobacilos benéficos del lechón.



Figura 18. Determinación de la presencia de eschericha coly dilución 1/10 en las excretas de lechones alimentadas con ensilado biológico de residuos de langostino con inculo de lactobacilos benéficos del lechón.

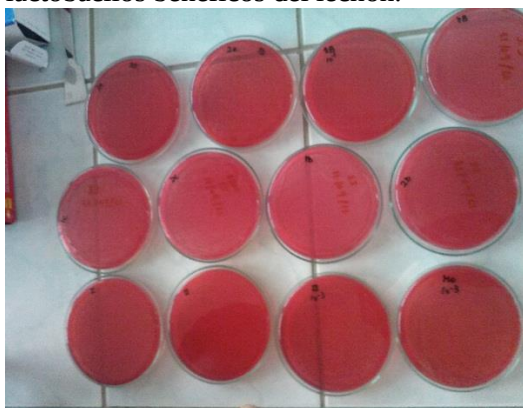


Figura 19. Determinación de la presencia de salmonella dilución 1/20 en las excretas de lechones alimentadas con ensilado biológico de residuos de langostino con inculo de lactobacilos benéficos del lechón.

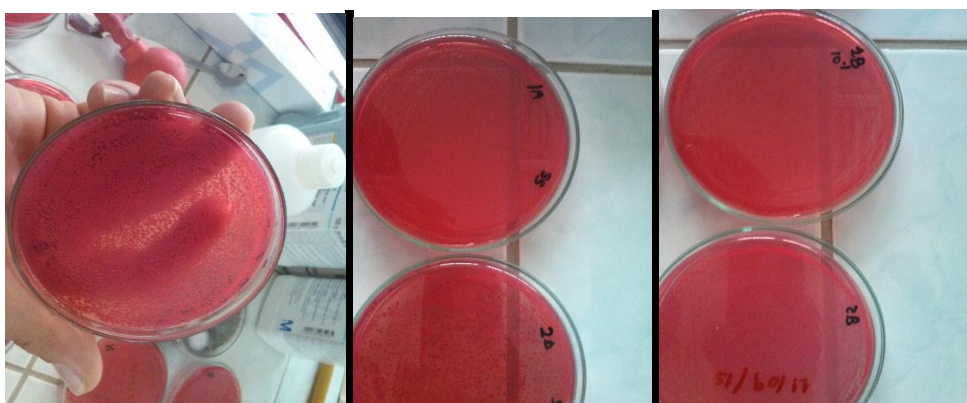


Figura 20. Determinación de la presencia de salmonella dilución 1/10 en las excretas de lechones alimentadas con ensilado biológico de residuos de langostino con inóculo de lactobacilos benéficos del lechón.

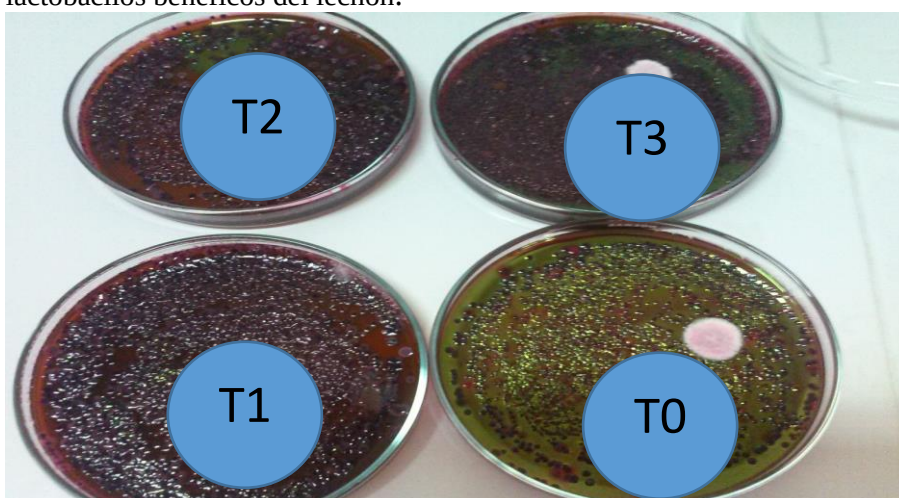


Figura 21. Determinación de la presencia de escherichia coli dilución 1/11 en las excretas de lechones alimentadas con ensilado biológico de residuos de langostino con inóculo de lactobacilos benéficos del lechón.

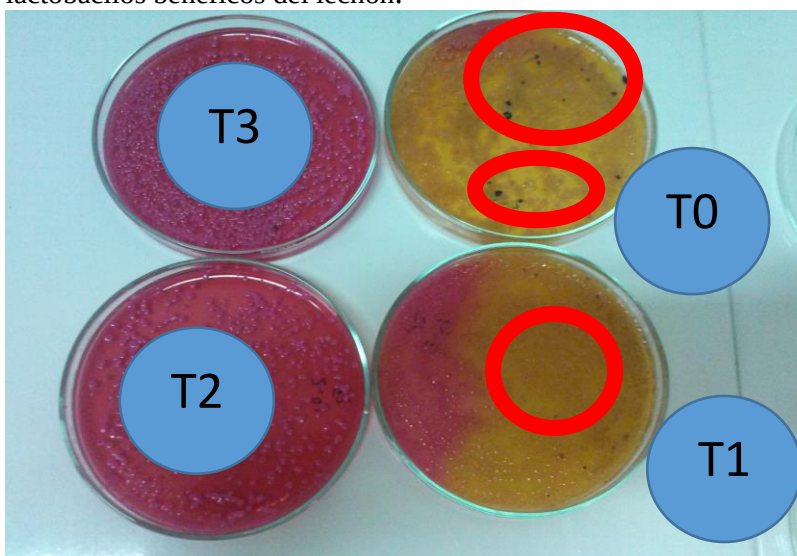


Figura 22. Determinación de la presencia de salmonella dilución 1/11 en las excretas de lechones alimentadas con ensilado biológico de residuos de langostino con inóculo de lactobacilos benéficos del lechón.

Tabla 29. Análisis determinación de la presencia de escherichia coli y salmonella en las excretas de lechones alimentadas con ensilado biológico de residuos de langostino con inóculo de lactobacilos benéficos del lechón.

	Tratamiento	Colonia	Agar EMB	Colonia	Agar SS
T2	1A	Brillo metálico	1.0E+04	Negra	0.0E+00
T2		Otras	6.0E+05	Otras	4.0E+05
T2	2A	Brillo metálico	1.0E+03	Negra	0.0E+00
T2		Otras	3.0E+05	Otras	1.0E+05
T3	1B	Brillo metálico	1.6E+04	Negra	0.0E+00
T3		Otras	7.8E+05	Otras	2.8E+05
T3	2B	Brillo metálico	1.0E+04	Negra	0.0E+00
T3		Otras	7.0E+04	Otras	3.4E+05
T0	1C	Brillo metálico	1.6E+04	Negra	1.9E+03
T0		Otras	4.0E+05	Otras	1.6E+05
T0	2C	Brillo metálico	9.0E+04	Negra	7.0E+02
T0		Otras	1.3E+05	Otras	2.0E+05
T1	1D	Brillo metálico	8.0E+04	Negra	0.0E+00
T1		Otras	2.8E+05	Otras	2.8E+05
T1	2D	Brillo metálico	1.2E+05	Negra	1.0E+02
T1		Otras	4.0E+04	Otras	1.6E+05
T0	M	Brillo metálico	2.0E+05	Negra	0.0E+00
T0		Otras	1.2E+06	Otras	8.0E+04
T0	I	Brillo metálico	3.6E+05	Negra	0.0E+00
T0		Otras	1.3E+06	Otras	2.4E+05
	II	Brillo metálico	5.2E+05	Negra	0.0E+00
		Otras	1.4E+06	Otras	1.1E+05
	III	Brillo metálico	4.0E+05	Negra	0.0E+00
		Otras	1.6E+06	Otras	8.0E+04

Resultados y discusiones, de la determinación de la presencia de escherichia coli y salmonella en las excretas de lechones alimentadas con ensilado biológico de residuos de langostino con inóculo de lactobacilos benéficos del lechón.

No se presentaron cantidades de microorganismos patógenos frecuentes en esta etapa especialmente por escherichia coli, que pueden causar cuadros diarreicos como lo manifiesta (Bhandari et. al., 2010; Pluske et. al., 2003; (Metzler y Mosenthin, 2009; Córdova, 1993; Villena y Ruiz, 2002; Vergara 2008)

La incorporación de pro biótico comercial o sustancias con propiedades microbianas, a las dietas disminuye la presencia de microorganismos patógenos (Metzler y Mosenthin 2009; Rounsavall et.al. 2008; Pig International 1997; Pluske et. al., b 2003; Konstantinov et.al., 2008).

La microbiotana nativa tiene efectos benéficos (Guarner et. al., 2008; Zhang et. al., 2011; Borruel 2007),

8. Análisis de la proteomica del Alimento, intestino y excretas Evaluación de perfiles proteómico mediante espectrometría de masa MALDI TOF TOF en ensilado, microorganismos de intestino y excretas. PROTOCOLO DE DIGESTIÓN EN SOLUCIÓN

Soluciones para el protocolo.

Buffer de Reducción: 100mM de DTT, Buffer de Alquilación: 100mM de Iodoacetamide, Buffer de Digestión: 50mM de Bi-carbonato de Amonio en agua (pH 8.0), Concentración de Tripsina: 0.1 ug/ul.



Figura 30. Lechones de tratamiento y extracción de muestras para proteomica de lechones alimentadas con ensilado biológico de residuos de langostino con inoculo de lactobacilos benéficos del lechón 21 días de edad

PROTOCOLO A SEGUIR

- Adicionar 15ul de buffer de digestión en un tubo de 0.2 ml.
- Adicionar 1.5ul de buffer de reducción.
- Adicionar 10ul de muestra.
- Adicionar 5ul de agua grado HPLC para completar un volumen de 27ul final.
- Luego incubar a 95 °C durante 5 minutos.
- Dejar enfriar y forrar los tubos con pape aluminio para el proceso de alquilación.
- Adicionar 3ul de buffer de alquilación.
- Incubar a temperatura ambiente durante 20 minutos, preferible en oscuridad.
- Luego adicionar 2ul de tripsina a cada muestra.
- Incubar a 37 °C durante toda la noche.
- Pera detener la acción de la tripsina se adiciona 5 ul de 20% de TFA.

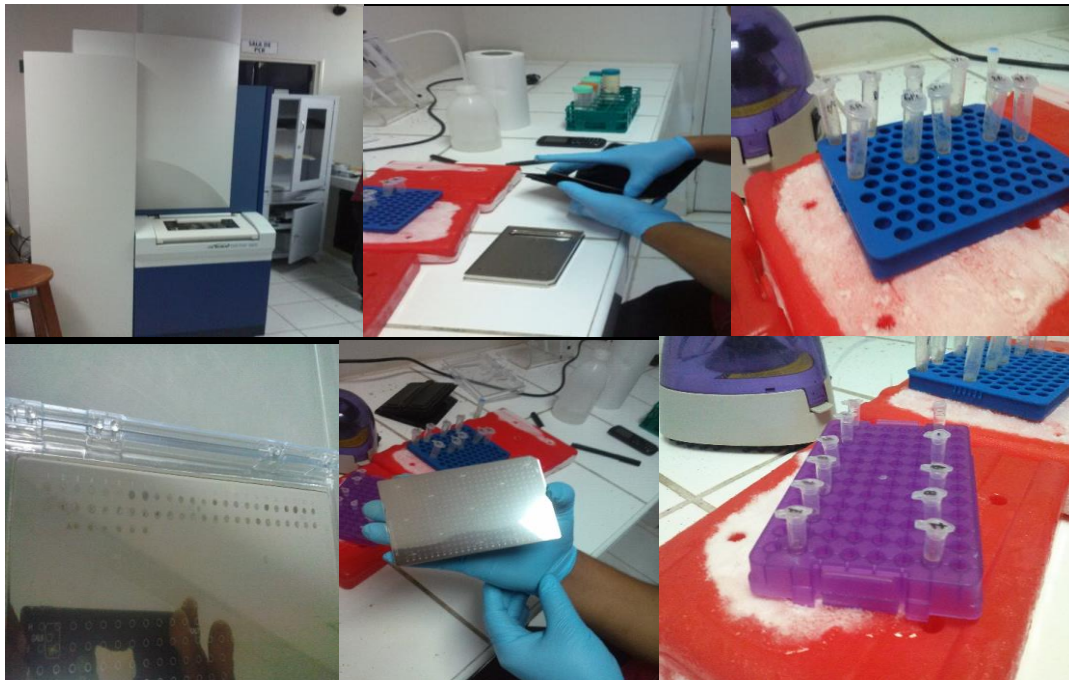


Figura 31. Extracción de muestras y análisis de la proteomica de lechones alimentadas con ensilado biológico de residuos de langostino con inoculo de lactobacilos benéficos del lechón 21 días de edad

Se muestran las gráficas obtenidas mediante el MALDI TOF TOF, el indica la disgregación de las moléculas existentes en las muestras y los pesos moleculares de las mismas en un rango de 600 a 4000 kdaltones. , el valor indica el peso molecular y el valor R muestra la cantidad de estas moléculas presentes en la muestra

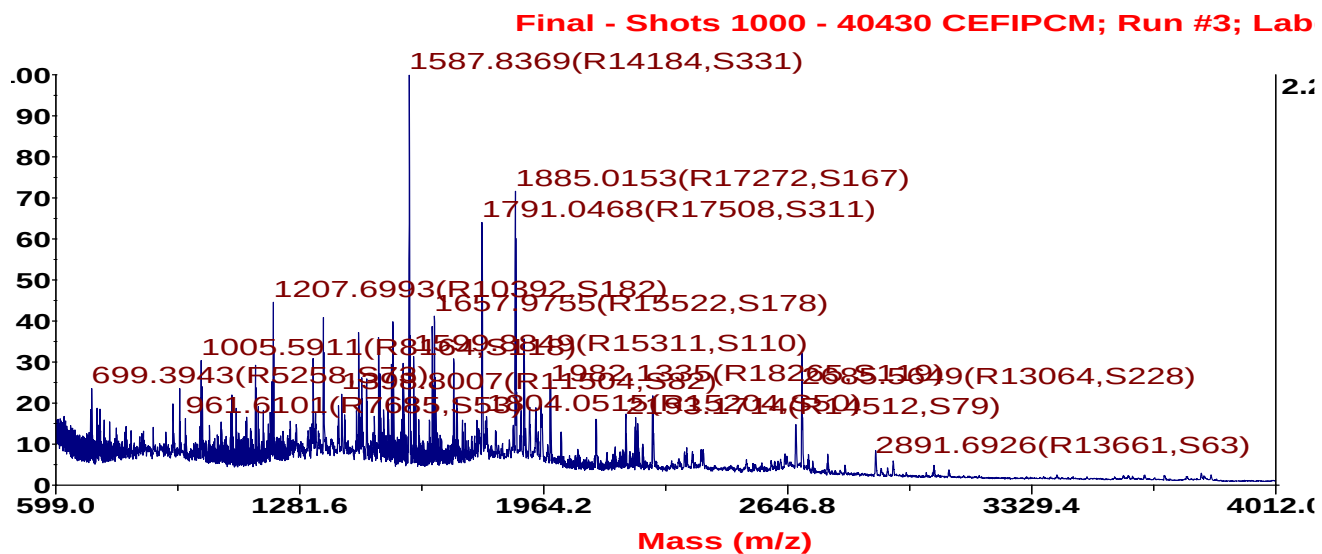


Figura 31. Determinación de picos de las moléculas de proteínas obtenidas en el **ensilado biológico** de residuos de langostino con inoculo de lactobacilos benéficos del lechón 21 días de edad

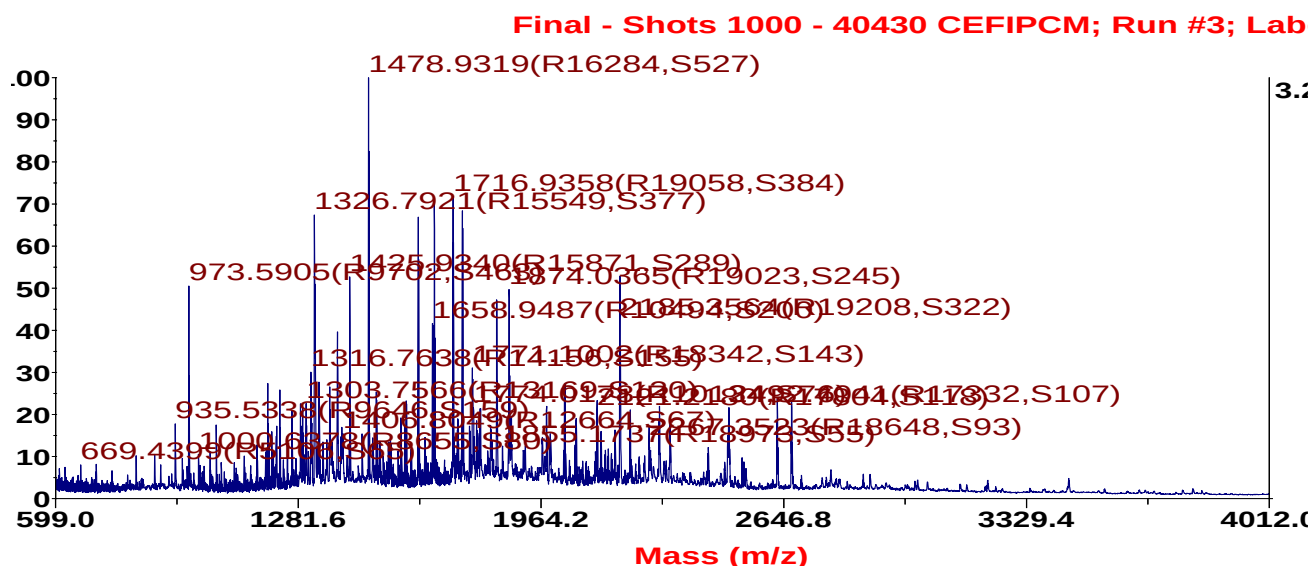


Figura 32. Determinación de picos de las moléculas de proteínas obtenidas en **el alimento con ensilado biológico** de residuos de langostino con inoculo de lactobacilos benéficos del lechón 21 días de edad

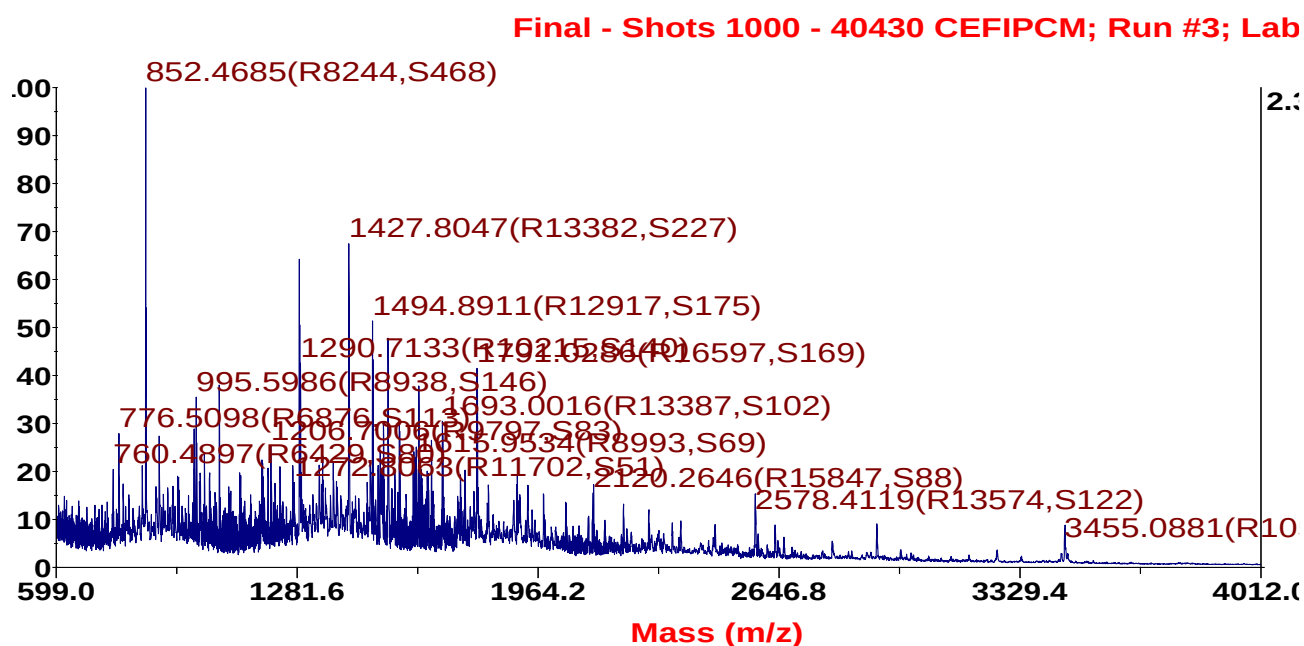


Figura 33. Determinación de picos de las moléculas de proteínas obtenidas **en el yeyuno de lechones** hembras alimentadas con ensilado biológico de residuos de langostino con inóculo de lactobacilos benéficos del lechón 21 días de edad

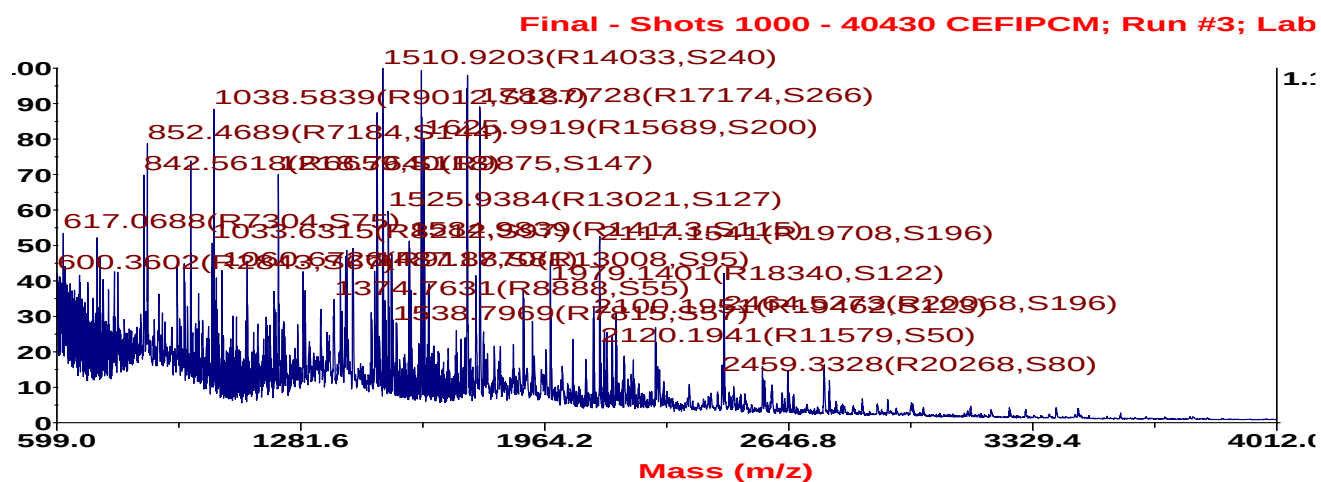


Figura 34. Determinación de picos de las moléculas de proteínas obtenidas **en el yeyuno de lechones** machos alimentadas con ensilado biológico de residuos de langostino con inóculo de lactobacilos benéficos del lechón 21 días de edad

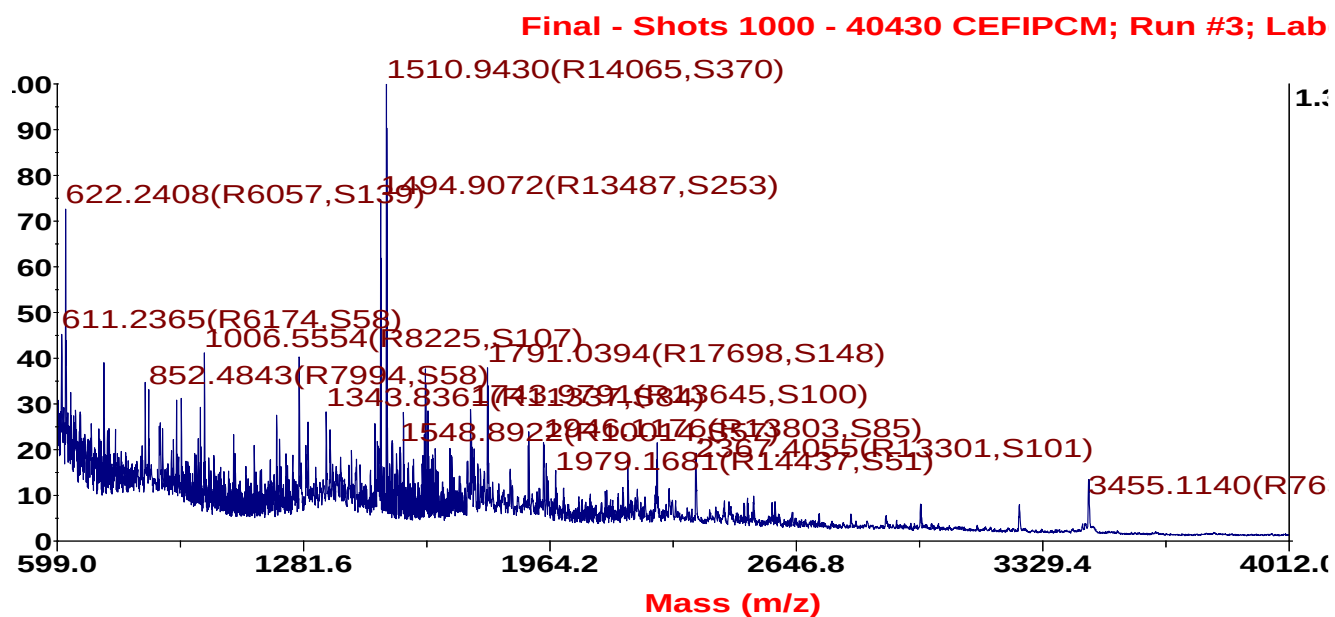


Figura 35. Determinación de picos de las moléculas de proteínas obtenidas **en el yeyuno de lechones machos testigo** alimentadas con ensilado biológico de residuos de langostino con inóculo de lactobacilos benéficos

Determinación de la PROTEOMICA, los picos de las figuras 33, 34, 35 y 36 se llevaron a una tabla comparativa ordenadas de mayor a menor peso e identificada por colores

En el ensilado biológico de ensilado biológico de residuos de langostino con inóculo de lactobacilos benéficos se encontraron moléculas de alto peso molecular relacionados con las proteínas de los insumos de los cuales están conformados.

En la comparación de la proteínica en el yeyuno

Los colores determinas la POSICION DE LOS PEPTIDOS Según el peso molecular de estos

Donde se muestra que en el yeyuno de los animales con tratamiento tienen mayor cantidad de péptidos de menor peso molecular color verde y Rosa el tratamiento testigo es el color el cual indica que tiene mayor peso molecular

Tabla 36. Determinación de los pesos moleculares de las proteínas comparados en diferentes secciones del aparato digestivo del lechón alimentado con ensilado biológico

Index	Centroid Mas	Lower Bound	Upper Bound	Height	S/N	Resolution	Area	Clust. Area	Ref. Mass
44	3455.11401	3454.69	3455.7	738	89	7633	13189.99	63892.71	0
82	3455.08813	3454.52	3455.75	857	123	10577	12111.79	74851.67	0
92	3455.05225	3454.46	3455.63	671	98	11187	9869.08	55961.89	0
81	2922.74658	2922.14	2923.32	964	83	10285	13420.98	64133.75	0
91	2922.71411	2922.34	2923.27	1119	107	12241	11503.77	57884.56	0
80	2796.57715	2796.27	2797.06	618	53	12070	6511.24	37911.5	0
90	2796.56934	2796.3	2797.03	636	56	12671	6540.97	33687.81	0
94	2759.44775	2759.07	2759.95	750	69	18172	5550.27	24784.81	0
85	2744.34277	2744.14	2744.87	815	90	15854	6715.36	37607.67	0
93	2744.33472	2744.14	2744.87	1084	108	17843	8001.39	42965.99	0
89	2659.54639	2659.27	2660.07	728	51	14862	7023.83	29040.84	0
84	2643.53003	2643.12	2644.11	745	69	13318	8369.63	37970.11	0
92	2643.52612	2643.2	2644.08	924	85	15251	7517.37	41602.76	0
88	2643.5249	2643.12	2644.03	809	53	9633	9625.68	35586.14	0
79	2634.59546	2634.05	2635.16	1023	68	15093	9197.17	41538.63	0
87	2634.59521	2634.11	2635.18	1321	86	16653	11721.24	42951.07	0
91	2598.34546	2597.93	2598.7	691	54	8590	7079.8	31094.43	0
86	2586.48853	2586.08	2587.01	933	59	12627	8379.96	31846.67	0
78	2578.41187	2578.05	2579	2017	122	13575	18988.29	75819.88	0
85	2578.40576	2578.18	2578.94	2059	144	13751	16834.58	79508.16	0
90	2578.3999	2578.16	2578.86	868	51	13505	6773.66	18148.46	0
83	2572.40991	2571.98	2572.85	798	58	15095	8221.54	28361.29	0
89	2572.40967	2572.2	2572.74	983	79	17859	6565.61	33191.07	0
82	2464.52856	2464.11	2465.04	2460	171	18522	16077.45	67016.48	0
88	2464.52734	2464.19	2464.91	2991	196	20069	19277.65	82773.23	0
84	2464.49243	2464.03	2464.91	1420	68	10913	14004.71	39564.11	0
87	2459.33276	2459.13	2459.88	1171	80	20268	7589.61	35494.03	0
43	2367.40552	2366.95	2367.79	1782	101	13302	15187.45	58954.29	0
22	2367.39453	2367	2367.91	915	59	11133	10734.31	39012.59	0
77	2367.38916	2367.05	2367.86	1397	62	13735	13178.43	39552.63	0
83	2367.37134	2367.07	2367.8	1376	58	15975	11852.75	31701.87	0
82	2362.46265	2362.01	2362.93	1001	52	14910	9545.88	39081.72	0
81	2343.35962	2343.08	2343.78	1034	55	12849	9164.12	39327.66	0
76	2343.35815	2343	2343.68	1094	58	14199	9243.14	42052.45	0
80	2305.37842	2304.92	2305.95	1303	50	16253	10792.55	27104.72	0
75	2277.15723	2276.92	2277.72	1913	86	16959	16880.79	65172.28	0
79	2277.15332	2276.87	2277.74	1717	77	16278	15389.41	55647.22	0
86	2273.32617	2272.93	2273.67	2376	95	20420	14073.73	31126.13	0
81	2273.32422	2273.01	2273.6	1936	80	19603	11919.22	24129.5	0
21	2260.24268	2260.02	2260.66	1044	65	11430	9885.69	37110.59	0
42	2260.2312	2259.98	2260.71	1811	103	11660	16311.96	70071.59	0
78	2205.35205	2205.04	2205.89	2698	111	15106	21327.26	75505.29	0
74	2205.35083	2204.96	2205.77	2189	77	16424	17664.31	49089.13	0
85	2185.33228	2184.91	2185.79	1285	55	9858	12337.26	35861.21	0
41	2179.16064	2178.84	2179.71	1725	85	12861	14527.25	52209.53	0
80	2163.26514	2162.89	2163.86	2587	115	12604	22715.49	65534.77	0
84	2163.25513	2162.79	2163.66	2862	118	12375	23911.37	68317.99	0
79	2152.19751	2151.95	2152.7	1839	85	16355	12291.37	39315.03	0
83	2152.19458	2151.9	2152.67	2268	95	18958	14629.8	43642.54	0
78	2137.1853	2136.93	2137.67	2112	96	17473	13317.06	42116.01	0
82	2137.17651	2136.9	2137.5	2255	95	20695	12655.88	39473.52	0
77	2130.20459	2129.87	2130.66	1704	53	13160	14570.59	21949.69	0
81	2130.20264	2129.8	2130.76	2209	91	12888	19320.59	57713.96	0
77	2120.26587	2119.91	2120.8	3137	106	14896	26716.47	76600.02	0
73	2120.26465	2119.96	2120.77	3004	88	15848	21957.65	50401.39	0
80	2120.19409	2119.86	2120.67	1878	50	11579	16420.79	21165.94	0
76	2117.15942	2116.92	2117.61	3653	156	17379	23030.98	66623.68	0
79	2117.15405	2116.92	2117.69	5072	196	19709	29349.41	78881.16	0
72	2106.33813	2105.81	2106.77	1952	53	14549	17703.33	35665.2	0
76	2106.3374	2105.88	2106.79	1770	52	13782	17094.71	38633.57	0
75	2100.19946	2099.98	2100.77	2160	99	16575	15330.2	52917	0
78	2100.19507	2099.96	2100.79	2884	123	19462	18156.86	60589.45	0
71	2042.22131	2041.78	2042.75	2697	74	15979	22301.57	60606.48	0
75	2042.21985	2041.88	2042.61	2192	56	15768	15697.45	31361.58	0
77	2042.21924	2041.86	2042.58	1949	76	15979	15135.1	55029.11	0
74	2042.21655	2041.78	2042.7	1448	57	14598	15652.16	49900.32	0
40	1979.16809	1978.85	1979.59	1466	51	14438	12506.47	30061.76	0
70	1979.14966	1978.84	1979.63	2967	75	15412	20599.41	58937.86	0
73	1979.14343	1978.79	1979.56	3868	144	16646	25435.88	81799.77	0
76	1979.14014	1978.84	1979.49	3912	122	18341	23066.86	61900.44	0
74	1979.13916	1978.87	1979.6	2245	60	15726	16339.8	40730.83	0
72	1967.0791	1966.89	1967.36	1719	67	14123	12764.31	45740.75	0
75	1967.07544	1966.81	1967.6	1921	52	17631	14288.43	29124.38	0
39	1953.15967	1952.79	1953.72	1547	51	13525	12055.29	26487.22	0
38	1946.11755	1945.81	1946.57	2322	85	13803	17622.35	47990.13	0
20	1946.11621	1945.93	1946.4	1173	52	12494	9358.82	25546.06	0
73	1934.1084	1933.8	1934.58	2735	73	14483	20872.35	57352.91	0
74	1929.15076	1928.81	1929.68	2720	61	17367	17731.37	27185.46	0
69	1912.14233	1911.72	1912.68	2882	58	12219	25406.67	58937.21	0
37	1904.17456	1903.84	1904.47	2249	80	15568	17021.96	46928.38	0
19	1904.17017	1903.81	1904.61	2076	79	15521	15578.04	32827.05	0
68	1904.16418	1903.85	1904.58	3417	68	16845	22261.18	50552.42	0
72	1904.15942	1903.88	1904.56	2347	54	15999	18320.98	39346.6	0
71	1904.15564	1903.88	1904.6	4209	127	16524	25948.43	64179.34	0
73	1904.15198	1903.57	1904.51	3803	105	19499	24961.37	62224.63	0
67	1823.12231	1822.84	1823.51	3335	54	12668	26003.92	43616.97	0
71	1823.10925	1822.77	1823.6	2899	60	10878	26947.06	51618.06	0
36	1791.03943	1790.69	1791.6	4416	148	17699	27043.73	70921.3	0
18	1791.0365	1790.65	1791.37	2372	95	16504	17207.45	44908.14	0
66	1791.02856	1790.82	1791.55	8774	169	16597	52329.21	131994.09	0
70	1791.02393	1790.66	1791.45	7505	182	15642	46091.77	125555.39	0
65	1782.0824	1781.73	1782.57	3067	54	13284	24561.77	52783.5	0
69	1782.07837	1781.78	1782.55	2757	57	13308	22970.39	46113.87	0

23	842.56177	842.15	842.86	7157	118	6659	69388.43	96020.84	0
5	842.56146	842.05	842.85	3057	67	6165	36946.47	52470.41	0
5	804.46948	804.15	804.76	2878	55	6080	30495.69	37399.39	0
4	788.513	788.17	788.76	3512	68	5671	39171.77	48909.36	0
24	787.51471	787.15	787.78	3790	64	5352	47933.73	60858.39	0
4	777.49432	777	777.79	3595	57	7073	37556.08	27692.93	0
3	776.50983	776.16	776.79	5793	113	6877	51883.53	66022.8	0
3	776.50403	776.1	776.74	4589	100	6131	45909.22	63460.04	0
23	773.49811	773.1	773.82	3039	51	4185	47602.16	59844.02	0
22	769.49146	769.05	769.81	3960	64	5169	51783.92	61488.59	0
22	769.4848	769.11	769.75	4069	60	5295	53975.69	61001.13	0
2	760.48969	760.01	760.73	4198	80	6429	44532.55	53710.03	0
21	760.48706	760.16	760.75	4560	70	5798	50965.49	53644.17	0
21	760.4809	760.14	760.79	4152	60	5022	53637.25	57513.96	0
2	760.48029	760.1	760.81	2959	62	5811	36202.16	45814.72	0
20	759.48578	759.08	759.73	3108	51	4650	44151.18	53127.55	0
19	757.49463	757.08	757.84	3131	50	4041	53250.59	61272.43	0
18	743.48871	743.12	743.76	4591	79	5338	56920.59	76181.06	0
20	743.47839	743.03	743.73	3554	51	4571	51481.77	55046.33	0
17	729.45532	729.02	729.8	3654	54	3912	61542.16	59423.14	0
16	728.40173	727.94	728.76	3246	52	2756	60844.71	70604.37	0
19	728.39874	727.96	728.79	3896	60	3596	69531.18	85357.49	0
3	728.34778	728.06	728.81	4338	70	3181	77236.47	106365.1	0
5	728.33521	728.09	728.81	6968	95	3579	100925.88	148249.19	0
15	720.46667	720.1	720.81	4011	62	5081	53024.31	56670.3	0
18	720.46558	719.88	720.83	4639	72	5110	64413.53	78652.63	0
14	713.46527	713.02	713.77	3439	55	4467	50910	57422	0
17	712.43695	712.07	712.8	3969	56	4938	55833.34	56912.96	0
13	711.45569	711.01	711.74	4487	73	5369	59388.63	69611.45	0
16	711.44598	711.28	711.74	4656	68	6207	52432.94	57083.36	0
12	699.45325	699.13	699.67	3864	62	5171	50130.59	57723.86	0
11	685.42755	685.01	685.69	4003	66	3943	59085.29	71861.62	0
15	685.41895	684.97	685.71	3790	57	3478	62675.69	73318.43	0
14	663.41541	663.03	663.78	3746	51	4289	59443.73	56033.41	0
1	662.41083	662.02	662.71	2716	51	4660	39603.53	47172.47	0
10	662.40985	661.98	662.73	3399	52	4171	47742.16	49318.15	0
13	662.40729	662.04	662.67	3864	58	3690	62488.82	71373.1	0
9	659.39935	658.96	659.78	3249	51	4066	57376.27	64277.1	0
8	655.41699	655.01	655.67	3641	56	4295	54538.63	57126.76	0
7	641.40747	641.06	641.72	4152	64	4289	58005.49	61732.73	0
12	636.35986	635.92	636.68	3636	53	2402	70262.74	77616.02	0
11	634.37537	633.98	634.72	3426	50	2556	65109.61	72064.99	0
6	627.38428	626.97	627.74	3727	66	3745	66458.04	94242.85	0
5	625.38232	624.94	625.7	3481	57	3059	63226.67	76494.3	0
10	625.36224	624.94	625.79	3602	51	2512	71537.45	72526.67	0
4	624.24286	623.98	624.78	5653	65	4617	99298.82	103724.66	0
3	623.24438	622.92	623.78	6284	56	5369	103038.44	64833.43	0
4	622.2439	621.96	622.32	2947	55	6637	42938.43	65780.13	0
1	622.24213	622.06	622.34	2520	56	6842	31914.12	45529.11	0
2	622.24109	622.01	622.73	12354	167	6573	147757.45	214179.84	0
2	622.24078	622.11	622.67	8389	139	6058	101872.16	148910.08	0
9	621.36353	620.89	621.76	3665	51	2594	72987.26	72697.05	0
8	620.36615	619.93	620.72	3554	52	2764	70958.63	77937.35	0
3	617.07849	616.94	617.2	3800	70	6431	36566.67	55933.39	0
7	617.06885	616.94	617.18	4472	75	7305	36911.77	52717.13	0
6	616.38007	615.89	616.76	3485	51	2641	69822.55	75496.91	0
2	611.35583	611.03	611.67	3714	58	2594	72072.16	79069.66	0
1	611.24036	610.93	611.35	5846	69	6799	70676.27	78726.05	0
1	611.23651	610.99	611.35	3929	58	6174	50383.73	57602.7	0
5	608.36591	608.04	608.7	3827	54	2822	72930.59	74469.72	0
4	606.36578	606.03	606.69	3815	55	3007	71197.65	74857.47	0
3	604.36383	603.95	604.65	3620	51	3012	64636.47	64882.78	0
2	602.35211	602	602.71	3468	53	2256	70442.55	85191.75	0
1	600.37134	599.99	600.78	3196	59	3067	60139.21	93187.61	0
1	600.36023	599.96	600.71	3878	67	2844	70541.77	109306.69	0

Resultado y discusiones, sobre proteómica de lechones alimentadas con ensilado biológico de residuos de langostino con inóculo de lactobacilos benéficos del lechón 21 días de edad

El proteoma es la dotación completa de proteínas, incluyendo las modificaciones hechas a un conjunto particular de proteínas, producidas por un organismo o sistema (Collado y Sanz 2007)(Rogne ET.AL., 2007) este método moderno aplicado a la biotecnología nos permite identificar moléculas específicas de proteína a partir de secuenciación genética, peso molecular y carga iónica de cualquier material biológico de unicelulares o eumetazoarios los cuales nos da una idea de la desintegración específica de las moléculas presentes así como también la presencia de microorganismos patógenos que puedan modificar el alimento o la salud del animal. (Lamendela et al., 2011) NCBI 2015) (Espinoza 2015) (Rodriguez y Barrios 2015)

Conclusiones

El ensilado biológico de residuos de langostino contiene gran cantidad de microorganismos que ayudan a la conservación y permite la proliferación de microorganismos benéficos

Existen una gran variedad de microorganismos benéficos en el tracto digestivo del lechón el cual está relacionado con microorganismos del género lactobacilos.

La incorporación de ensilado biológico como fuente alimenticia no produce cuadros diarreicos en lechón utilizados hasta en 20 % de la dietas

La composición química del alimento mejora con la incorporación de lactobacilos naturales del tracto digestivo del lechón el cual fortalece la calidad del alimento, mejorando el tiempo de vida, incorporando sustancias que evitan la putrefacción, así como sustancias alimenticias para el animal, aumenta la cantidad de microorganismos naturales benéficos del animal que lo consume sin causar problemas digestivos

Los lechones pre destetados alimentados con dietas e inoculando niveles de 1.5 DO equivalente 3×10^8 UFC/gr. de microorganismos naturales aislados y cultivados del tracto digestivo del lechón obtuvieron la mejor eficiencia en función a la conversión alimenticia mejorando la viabilidad del uso de alimentos sólidos en el destete,

El ensilado biológico de residuos de langostino fermentado con lactobacilos naturales extraídos del tracto digestivo de lechones de 21 días, es más eficiente sobresaliendo el nivel de 15% en la dieta el cual, disminuye el consumo de alimento, favorece el incremento de peso a la vez mejora el índice de conversión alimenticia y la digestibilidad del alimento.

No existe presencia de coliformes fecales patógenos, escherica coli ni salmonela que puedan causar problemas digestivos en animales alimentados con ensilado biológico de residuos de langostino.

Todos los organismos vivos presentan una flora bacteriana natural en la cual el equilibrio (benéficas y dañinas) es muy importante para que se produzca la degradación del alimento, que la mayoría de estos microorganismos son benéficos y están corresponden al genero lactobacilos

Existe una relación directa entre las proteínas que el animal consume y el paso por el tracto digestivo siendo inversamente proporcional, degradación entre el alimento, yeyuno y menor en el ciego

Bibliografía

Acero, F. (2011). Composición y funciones de la flora bacteriana intestinal. Repertorio de Medicina y Cirugía, 20(2), 74.

Álvarez, J. (2004) Evaluación de diferentes dosis de un preparado biológico de bacterias lácticas en cerdos en ceba, Revista Electrónica de Veterinaria Redvet, ISSN 1695-7504, V(6): 2004: España. Disponible en línea: <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n060604>

Andrade, D. Chavez, M. Naar, V. 2006. Evaluación De Las Etapas De Cocción Y Secado En La Obtención De Harina De Cabezas De Camarón De Cultivo (*Penaeus Sp*) Noviembre 14 de 2006, versión final enero 22 de 2007, Universidad de Córdoba, Colombia.

Balladares, J. 2006. Efecto del nivel de melaza sobre el índice de acidez en el ensilado biológico de residuos de langostino. Tesis para optar el título de Ing. Pesquera, Universidad Nacional de Tumbes 2006

Beltrán G. Velázquez H. y Pérez E. (2011) Prácticas alimenticias en lechones en lactación y post – destete, México Disponible en línea <http://www.ergomix>.

Bello, R. (1994) Experiencia con ensilado de pescado en Venezuela. En: Taller “Tratamiento y utilización de desechos de origen animal y otros desperdicios en la ganadería” FAO: La Habana, Cuba, del 5-8 de Septiembre. Disponible en línea: <http://www.fao.org/ag/aga/agap/frg/APH134/cap1.htm>.

Berger, C. (2007) “Acuicultura, un desafío para el Perú” Instituto del Mar del Perú: Seminario SINTEF Noruega 19-20 Noviembre 2007. Asociación Langostinera Peruana Disponible en línea: <http://www.alpe.com.pe>

Bertullo, E. (2001) Tecnología de los productos de la pesca: Guía de trabajos prácticos, Universidad de la República Uruguay: Facultad de Veterinaria. Instituto de Investigaciones Pesqueras: Montevideo-Uruguay.

Bhandari, S. K., Opapeju, F. O., Krause, D. O., & Nyachoti, C. M. (2010). Dietary protein level and probiotic supplementation effects on piglet response to Escherichia coli K88 challenge: Performance and gut microbial population. Livestock Science, 133(1), 185-188.

Borrue, N. (2007) Probióticos y prebióticos en la enfermedad inflamatoria intestinal gastroenterología y patología Vol. 30. Núm. 07. Agosto 2007 Hospital de la Vall d'Hebron. Barcelona. España doi: 10.1157/13108812

Casaburi, A. et. Al. (2003) Propiedades tecnológicas y de producción de bacteriocinas por Lactobacillus curvatus 54M16 y su uso como cultivo iniciador para la fabricación de embutidos fermentados Control de los Alimentos, Volumen 59, enero de 2016, páginas 31 a doi: 10.1016 / j.foodcont.2015.05.016

Cabañeros Porcinos (2007) Alimentación Porcina: Antibióticos Promotores Del Crecimiento Asociación Argentina Cabañeros de Porcinos. 2007. www.produccion-animal.com.ar

Cadillo, J. (2008) Producción de porcinos, Talleres gráficos Juan Gutember, primera Edición, p. 512, Lima Perú

Castillo, W. (2000) Alteraciones en el sistema digestivo de lechones destetados precozmente. In: Reunión Científica anual de la Asociación Peruana de Producción

Animal (23, 2000, Huanuco, Perú). 2000 CD, conferencias, APPA

Caravaca, R. Castel M. Guzman Geurrero Córdova, P. (1993) Alimentación Animal, Mapas Bibliografía CONCYTEC p. 244, Lima Perú.

Caravaca, P. Castel, M. Guzman, L. Delgano, L Mena, Alcaidelo, Gonzales P. (2005) y Nutrición y alimentación animal, Universidad de Sevilla, secretaria de publicaciones. Convenio universidad de Córdoba, Argentina.

Collado, M. y Sanz Y (2007) Characterization of the gastrointestinal mucosa-associated microbiota of pigs and chickens using culture-based and molecular methodologies J Food Prot, 70 (2007), pp. 2799–2804

Córdova, P. (1993) Alimentación Animal, Mapas Bibliografía CONCYTEC p. 244, Lima Perú.

Cranwell PD. (1985) The development of acid and pepsin secretory capacity in the pig; The effects of age and weaning. Studies in anaesthetized pigs. Br J Nutr;54: 305-320. Fowler WR. The nutrition of weaned pigs. Pigs News and Information. 1980; 1:11.

Cueto, C. Acuña, Y y Valenzuela, J. (2010), Artículos de investigación evaluación in vitro del potencial probiótico de bacterias ácido lácticas aisladas de suero costeño in vitro evaluation of probiotic potential of lactic bacteria acid isolated from coastal serum Actu Biol vol.32 no.93 Medellín July/Dec.

Champagne, C. P., Gardner, N. J., & Roy, D. (2005). Challenges in the addition of probiotic cultures to foods. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 45(1), 61-84.

De Lange, C. F. M., Pluske, J., Gong, J., & Nyachoti, C. M. (2010). Strategic use of feed ingredients and feed additives to stimulate gut health and development in young pigs. Livestock Science, 134(1), 124-134.

Deusch, S. Tilkoca, B. Camarinha, A. Seifert J. (2015) News in livestock research — use of Omics-technologies to study the microbiota in the gastrointestinal tract of farm animals computational and structural biotechnology journal volumen 13 pag 55 a63 2015 <http://ezproxy.concytec.gob.pe:2053/science/journal/20010370>

Dirección de Educación Agraria DEA (2003).Manual de Porcinos, tercer año ciclo básico, Dirección Provincial de Educación Técnica Profesional, Cultura y educación, p 190 Buenos aire Argentina.

Días W. Castillo W. y Arenaza M. (2009) Uso de flavorizante en dietas preiniciadoras y de recría para lechones destetados precozmente, In: Reunión Científica anual de la Asociación Peruana de Producción Animal (2009, Tumbes, Perú). 2009 CD, conferencias, APPA

Ensminger, N. (1983). Alimentación y nutrición de los animales. Editorial El Ateneo. Buenos Aires. Argentina.

Espinoza, L. (2015) Guía práctica sobre la técnica de PCR INECC Capítulo diecisiete Las herramientas moleculares.

<http://www2.inecc.gob.mx/publicaciones/libros/530/cap17.pdf>

FAO, (2006). Food and Nutrition paper 85. Probiotics in food - Health and nutritional properties and guidelines for evaluation

Figuro, V. y Sánchez, M. (1994) Tratamiento y utilización de residuos de origen animal, pesqueros y alimenticios en la alimentación animal, Taller regional Instituto de Investigación Porcina IISN-1014-1200, FAO producción y sanidad animal, 134, IIP y la FAO, % al 8 de Septiembre de 1994. La Habana, Cuba.

Fibao (2015) gestión integral de la Investigación Biosanitaria
<http://www.fibao.es/noticias/2015/9/16/nuevo-portal-fis-isciii/>

García M. López J. Carcasses (2012) Empleo de probiotico en los animales, Facultad de Medicina Veterinaria, Univ. Popular de Angola, porcinocultura

Guarner F, Khan A, Garisch J. et al. (2008) Guías prácticas de la OMGE Probióticos y prebióticos. Mayo

Gabert VM, Jorgensen H. Nyachoti CM. (2000) Bioavailability of amino acids in feedstuffs for swine. In: Lewis AJ, Southern LL, editors. Swine nutrition 2nd ed. Boca Raton: CRC Press, 151-186.

Garcia, M. Lopez, y. Carcasses A. (2012) Empleo De Probióticos En Los

Animales. 2012. Engormix.com. www.produccion-animal.com.ar

Gilliland, S.E. Bacterial Starter Cultures for Food. EUA: CRC Press, Boca Raton, Florida, 1985. 175p.

González-Vega, L. M.; Barrios, V.; García D., M.; Naharro, G.; Carvajal, A.; Rubio, P. (2011). Aislamiento y caracterización de bacterias ácido lácticas de calostro de cerda e intestino de lechones recién nacidos. Evaluación preliminar de sus posibilidades de uso como probióticos. XIV Jornadas sobre Producción Animal, Zaragoza, España, 17 y 18 de mayo, pp. 848-850 (paper).

Gupta, V., & Garg, R. (2009). Probiotics. Indian journal of medical microbiology, 27(3), 202.

Hong, T. T. T., Passoth, V., & Lindberg, J. E. (2011). Bacterial diversity at different sites of the digestive tract of weaned piglets fed liquid diets. Asian-Aust. J. Anim. Sci, 24, 834-843.

Jurado, H., Aguirre, D., & Ramírez, C. (2009). Caracterización de bacterias probióticas aisladas del intestino grueso de cerdos como alternativa al uso de antibióticos. Revista MVZ Córdoba, 14(2).

Kim, H. Borewicz, K. White, B. Singer, R y Sreevatsan, Z. (2012) Microbial shifts in the swine distal gut in response to the treatment with antimicrobial growth promoter, tylosin Proc Natl Acad Sci U S A, 109 (2012), pp. 15485–15490

Klose, V., Bayer, K., Bruckbeck, R., Schatzmayr, G., & Loibner, A. P. (2010). In vitro antagonistic activities of animal intestinal strains against swine-associated pathogens. Veterinary microbiology, 144(3), 515-521.

Konstantinov, S. R., Awati, A. A., Williams, B. A., Miller, B. G., Jones, P., Stokes, C. R., ... & De Vos, W. M. (2006). Post-natal development of the porcine microbiota composition and activities. Environmental microbiology, 8(7), 1191-1199.

Konstantinov, S. R., Smidt, H., Akkermans, A. D., Casini, L., Trevisi, P., Mazzoni, M., ... & De Vos, W. M. (2008). Feeding of *Lactobacillus sobrius* reduces *Escherichia coli* F4 levels in the gut and promotes growth of infected piglets. FEMS

microbiology ecology, 66(3), 599-607.

Kurzak, P., Ehrmann, M. A., & Vogel, R. F. (1998). Diversity of lactic acid bacteria associated with ducks. Systematic and applied microbiology, 21(4), 588-592.

Lamendela, R. et al., (2011) Comparative fecal metagenomics unveils unique functional capacity of the swine gut BMC Microbiol, 11 (2011), p. 103

Leroy, F., & De Vuyst, L. (2004). Lactic acid bacteria as functional starter cultures for the food fermentation industry. Trends in Food Science & Technology, 15(2), 67-78.

Lessi, E. (1990) Ensilaje de pescado en Brasil para la alimentación Animal. Capitulo 3, CPTA/INPA, Manaus, AM, Brasil. Disponible en línea: <http://www.fao.org/ag/aga/agap/frg/APH134/cap3.htm>.

Lehninger, D. Cox, M. y Nelson, D. (2001) Principios De Bioquímica, Ediciones Omega, Español, 1264.

Ley, R., Hamady, M., Lozupone, C., Turnbaugh, P., Ramey R., Bircher, J. S., Schlegel, M., Tucker, T., Schrenzel, A., Mark D. Knight, R., and Gordon, J., Evolution of mammals and their gut microbes Science. 2008 Jun 20; 320(5883): 1647–1651 Science. Author manuscript; available in PMC 2009 Feb 27 I. 1,*

Loft T et al., (2014) Bacteria, phages and pigs: the effects of in-feed antibiotics on the microbiome at different gut locations The ISME Journal (2014) 8, 1566–1576; doi:10.1038/ismej.2014.12; published online 13 February 2014

Mallo, J. J., Rioperez, J., & Honrubia, P. (2010). The addition of *Enterococcus faecium* to diet improves piglet's intestinal microbiota and performance. Livestock Science, 133(1), 176-178. Montes, A. Santacruz, A y Sañudo, J. (2003). Efecto in vitro de *Lactobacillus casei* subsp. *rhannosus* sobre el crecimiento de un aislado de *Helicobacter pylori*. Pasto, Colombia, Universidad de Nariño

Meng, Q. W., Yan, L., Ao, X., Zhou, T. X., Wang, J. P., Lee, J. H., & Kim, I. H. (2010). Influence of probiotics in different energy and nutrient density diets on

growth performance, nutrient digestibility, meat quality, and blood characteristics in growing-finishing pigs. *Journal of animal science*, 88(10), 3320-3326.

Mendoza, E. (1994) Factibilidad económica para la fabricación de harina de cabeza de langostino. Trabajo de investigación. Universidad Nacional de Tumbes, Facultad de Ingeniería Pesquera, Tumbes.

Metzler, B. y Mosenthin, R. (2009). Efecto de los ácidos orgánicos en el crecimiento, performance y digestibilidad de nutrientes en lechones, Institute of Animal Nutrition, University of Hohenheim, Stuttgart, Germany, Acidificantes en la nutrición animal, Nottingham University Press, Alemania.

Mc Donald, Edwards, Greenhalgh, *Nutrición y Alimentación, Nutrición animal*, editoriales Aciba España, p. 554.

Morrison, F. (1985) Alimentos y Alimentación del Ganado. Versión Española Tomo I y II, de José Luis de la Loma. Editorial Editorial UTHERA. 1370 México.

NCBI (2015) National Center for Biotechnology Information advances science and health by providing access to biomedical and genomic information.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>

Parra, R. (2010). Review lactic acid bacteria: functional role in the foods. *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 8(1), 93-105.

Parin, M. y Zugarramurdi, A. (1994) Aspectos Económicos del Procesamiento y Uso de Ensilados de Pescado, Capítulo 4 En: Taller “Tratamiento y utilización de desechos de origen animal y otros desperdicios en la ganadería”. FAO. La Habana, Cuba, del 5-8 de Septiembre. Disponible en línea: <http://www.fao.org/ag/aga/agap/frg/APH134/cap4.htm>

Partanen, K.H. and Mroz, Z. (1999) Organic acid for performance enhancement in pig diets. *Nutrition Research Review* 12: 117-145.

Perez N. et. Al. (2007) Production of four potentially probiotic lactic acid bacteria and their evaluation as feed additives for weaned piglets *Alimentación animal ciencia y tecnología volumen 134* cuestión 89/101 2007

Pérez, M et. al. (2011), Evaluación de métodos para medir la actividad inhibitoria de extractos vegetales nativos del departamento de sucre sobre bacterias y levadura patógenas Universidad de Sucre, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Colombia. alexander.perez@unisucra.edu.co Recibido: 21-06- 2010; Aceptado: 11-10-2010.

Pieper, R., Janczyk, P., Schumann, R., & Souffrant, W. B. (2006). The intestinal microflora of piglets around weaning with emphasis on lactobacilli. *Archiva Zootechnia*, 9, 28-40.

Pluske, J. R. (2013). Feed-and feed additives-related aspects of gut health and development in weanling pigs. *J Anim Sci Biotechnol*, 4(1), 1.

Rodriguez, I et. Al. (2011) Evaluación de dos bacterias lácticas probióticas bacteriocina productoras de ácido como inoculantes para el control de *Listeria monocytogenes* en hierba y maíz ensilajes Alimentacion animal ciencia y tecnologia volumen 175 cuestion 03/04 10 agosto del 2011

Rodriguez, I. y Barrios M. (2015) Reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y otras técnicas moleculares en el estudio de afecciones dermatológicas *Dermatologia Ibero-Americana Online*, Laboratorio de Ingeniería Genética, Instituto de Biomedicina, Universidad Central de Venezuela CAPITULO 85: <http://piel-l.org/libreria/item/1074>

Rogne, P. Filmen, G. Nissen, J. y Eugen P. (2007) Three-dimensional structure of the two peptides that constitute the two-peptide bacteriocin lactococcin G Formerly known as Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Protein Structure and Molecular Enzymology doi:10.1016/j.bbapap.2007.12.002

Rosmini M. 2004. Producción de prebióticos para animales de abasto: Importancia del uso de la microbiota intestinal indígena. *Revista de Ingeniería Química*. vol 3: 181-191.

Rounsavall, J. Newman, C. Neher, F. Laurenz J. (2008) Mejoramiento del desempeño de lechones utilizando productos naturales, Texas A&M University-Kingsville, Department of Animal and Wildlife Sciences, Kingsville, USA; Biomin USA, Inc., San Antonio, USA

Sauer WC, Li S. (1994) The effect of dietary fat content on aminoacid digestibility in young pigs. J Anim Sci. 72: 1737-1743.

Sánchez, H.; Benites, E. (2009) Efecto de tres niveles de ensilado biológico de restos de *Penaeus vannamei*. En la alimentación de cerdos (*Sus escrofa*), en su etapas de crecimiento y acabado en Tumbes, Trabajo de Investigación Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Tumbes.

Sánchez, H. (2011) Efecto de tres niveles de ensilado biológico de restos de *Penaeus vannamei*. En la alimentación de cerdos (*Sus escrofa*), en su etapas de gestación y lactacion en Tumbes, Trabajo de Investigación Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Tumbes.

Servicio Nacional de Aprendizaje SENA (2003) Porcino cultura, convenio SENA Holanda, Tomo 3, 4, 5, Colombia.

Sorza, Z. (2003) Nutrición de Lechón In: Congreso Nacional de Porcicultura y Expo porcina (3., 2003, Lima, Perú). 2003. Memorias. Lima, Asociación peruana de Porcicultores. p. 132 – 149.Lima Perú

Toypoco, M. (2006) Técnicas de procesamiento de ensilado, Instituto Tecnológico Pesquero del Perú. Disponible en línea: [http:// www.itp.org.pe](http://www.itp.org.pe).

Universo Porcino (2015) Alimentación porcina antibióticos promotores del crecimiento. Los antibióticos promotores del crecimiento: situación actual y perspectivas de futuro
http://www.aacporcinos.com.ar/nutricion_porcina/alimentacion_porcina_antibioticos_promotores_del_crecimiento.html

Urbina, R. (s/f) El ensilaje. Una técnica fácil de conservar pasto. Revista No. 77, UNAG de El Sauce,

Villena, E. y Ruiz, J. (2002) Técnico en ganadería, Tomos 1, 2 y 3. Editorial cultura, S.A. Madrid España.

Vergara, M. (2008) Eficacia de *Lactobacillus acidophilus* en la prevención y tratamiento de diarreas colibacilares en lechones lactantes y en marranas (*Sus scrofa* raza Duroc – Yorkshire) en el último tercio de la gestación. Universidad Nacional de

Trujillo, peru.

WUFFF DA. Formulación de raciones amigables Windows, Gene Pesti, The University of Georgia, Athens GA USA, Version 1.0, March 8, 2002

Yao, W. Zhu, W. Smidt, H. y Verstegen, M (2011). Cultivation-Independent Analysis of the Development of the Lactobacillus spp. Community in the Intestinal Tract of Newborn Piglets Agriculture science in china volume 10 lissue 3 2011

Zhang, J., Deng, J., Wang, Z., Che, C., Li, Y.F., Yang, Q., 2011. Modulatory effects of Lactobacillus salivarius on intestinal mucosal immunity of piglets. Curr. Microbiol. 62, 1623–1631.