

Reducción de antibióticos en ganadería a través de una alimentación natural basada en el uso de hongos y algas

En la industria ganadera, el uso de antibióticos puede conducir a un aumento de la resistencia bacteriana en las granjas, lo que repercutirá directamente en el aumento de la mortalidad y provocará importantes pérdidas productivas, sanitarias y económicas en el sector.

FEUGA - Fundación Empresa Universidad Gallega (Illoret@feuga.es), Hifas Veterinary, Neoalgae, Grupo Uvesa



Imagen 1. Obtención de compuestos activos de los hongos.



Imagen 2. Fotobiorreactor para la producción de *Chlorella*.

El Grupo Operativo Micoalga-Feed tiene como objetivo reducir o eliminar el uso de antibióticos en la avicultura mediante el uso de una dieta basada en hongos y microalgas. Para ello, las entidades implicadas en el proyecto han desarrollado un nuevo pienso funcional compuesto por moléculas activas extraídas de hongos y microalgas, las cuales han sido seleccionadas en función de sus actividades antibióticas, antiinflamatorias e inmunomoduladoras.

El consumo de los piensos desarrollados en el marco del proyecto Micoalga-Feed ayudará a prevenir enfermedades respiratorias o gastrointestinales comunes en las aves, como las causadas por la bacteria *Salmonella*, *E. coli* o *Campylobacter*.

La iniciativa está coordinada por FEUGA (Fundación Empresa Universidad Gallega), con la participación de Hifas Veterinary, Neoalgae y Grupo Uvesa. Con una fecha de finalización del proyecto de marzo de 2023, el proyecto ha realizado una serie de hallazgos, que se detallan a continuación.

Producción de ingredientes

Primero, se realizó una exhaustiva revisión

bibliográfica para confirmar la eficacia teórica de los productos de hongos y microalgas en monogástricos (principalmente pollos broiler). En base a ello se determinaron las especies de hongos y microalgas más adecuadas, así como su formato y dosificaciones.

Una vez seleccionadas las especies con mayor potencial antibacteriano, inmunomodulador y/o antiinflamatorio en base a la revisado, se inicia la producción a escala piloto de hongos y microalgas para obtener cantidades suficientes de estos componentes y así poder comenzar con las pruebas *in vitro*.

Una vez que están disponibles los primeros resultados de las pruebas *in vitro*, comienza el proceso de escalado. Estos indicaron que las microalgas con mayor potencial fueron *Chlorella vulgaris* (Cv) y dos especies conformadas por "*Pleurotus ostreatus*" (*P. ostreatus*), "*Ganoderma lucidum*" (*G. Reishi*) y "*Shiitake*" (*L.edodes*). De esta manera, se amplió la producción de estas especies, aumentando la eficiencia en un proceso de mejora continua, teniendo en cuenta la adecuada preservación, mantenimiento y trazabilidad de los productos.

Cribado "in vitro" de los hongos y microalgas

Las primeras pruebas *in vitro* de los ingredientes y sus combinaciones se realizaron en un total de cinco muestras de 90g de microalgas y cinco muestras de 100g de hongos.

Efecto antimicrobiano

En primer lugar, se llevó a cabo una selección de las cepas de interés para actuar como dianas en varios ensayos. Los patógenos *E. Coli*, *Campylobacter* y *Salmonella* fueron elegidos como los más relevantes.

Para determinar la capacidad antimicrobiana de los mismos, se realizaron pruebas *in vitro* empleando medios de cultivo para diagnosticar el grado de inhibición de los extractos frente a los microorganismos diana, y así poder determinar la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI).

Se concluyó que en ninguno de los ingredientes evaluados se detectó actividad antimicrobiana.

Efecto inmunomodulador y antiinflamatorio

Los macrófagos son células especializa-

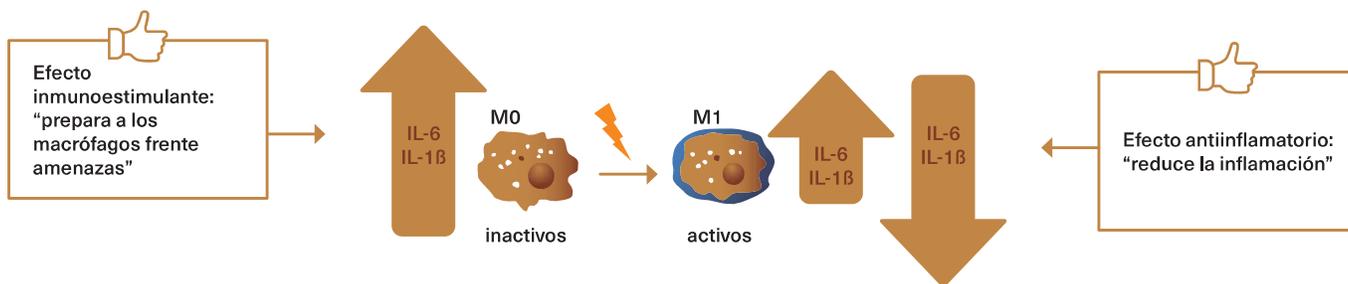


Imagen 3. Esquema del estudio de los efectos inmunostimulante y antiinflamatorio.

das del sistema inmune cuya función es la protección del organismo frente a la invasión de patógenos mediante la liberación de citoquinas, por ello, son las más evaluadas en ensayos *in vitro*. En Micoalga-Feed se decidió realizar las pruebas sobre la línea de macrófagos aviares HD11, con las citoquinas IL-1 β , IL-6 e IL-10.

Cabe destacar el efecto dual que tienen los macrófagos, ya que las células de defensa pueden estar “activas” o “inactivas”, dependiendo de si el animal se encuentra sano o no. Por lo tanto, se evaluará el efecto inmunostimulante cuando los macrófagos estén inactivos, y el efecto antiinflamatorio cuando estos se hallen activos.

Sin embargo, es importante conocer la biocompatibilidad de los productos con

el macrófago HD11 para poder evaluar el efecto funcional de los mismos. Tras realizar los ensayos, se demostró una concentración biocompatible de hongos y microalgas de 250 $\mu\text{g}/\text{mL}$.

Para valorar el efecto inmunomodulador las células HD11 estaban “inactivas” y fueron tratadas con las muestras de interés. Tras esto, se obtuvo que, en el caso de los hongos, todas las muestras proporcionadas demostraron poseer efecto inmunomodulador, mientras que en las microalgas, sólo una no poseía dicho efecto.

Al contrario que en el caso anterior, para evaluar la capacidad antiinflamatoria, las células HD11 se expusieron a un activador que incrementaba la expresión de las citoquinas, detectando efecto anti-

inflamatorio en las muestras M1 y M4, de los hongos, **Tabla 1**, y en la muestra Cv de las microalgas, **Tabla 2**.

Resumiendo, en los resultados obtenidos, se puede observar que las muestras M1 y M4 de hongos son las de mayor interés por la doble capacidad inmunomoduladora y antiinflamatoria que presenta. Por su parte, la muestra de Cv es la más relevante en el caso de las microalgas.

Atendiendo a estos resultados, se decidió evaluar la combinación de los hongos M1 y M4 con la microalga Cv por separado. Finalmente, se puede concluir que los resultados más satisfactorios fueron para la combinación de M1 con Cv, pero los ensayos *in vitro* indicaron que la concentración debe ser de cinco partes de hon-

Tabla 1. Resumen del efecto inmunomodulador y antiinflamatorio, respectivamente, de las muestras de hongos.

250 $\mu\text{g}/\text{mL}$	M1	M2	M3	M4	M5
Células de defensa “inactivas”					
IL-1 β	↑	↑	↑	↑	↑
IL-6	↑	↑	↑	↑	↑
Células de defensa “activas”					
IL-1 β	↓	=	=	=	↑
IL-6	↓	=	=	↓	↑

Tabla 2. Resumen del efecto inmunomodulador y antiinflamatorio, respectivamente, de las muestras de microalgas.

250 $\mu\text{g}/\text{mL}$	Ap/Cv	Ap-10 $\mu\text{g}/\text{mL}$	Cv-50 $\mu\text{g}/\text{mL}$	Hp_R	Ap f_R
Células de defensa “inactivas”					
IL-1 β	↑	↑	=	↑	↑
IL-6	↑	↑	↑	↑	↑
Células de defensa “activas”					
IL-1 β	↑	↑	↓	↑	↑
IL-6	↑	↑	↓	↑	↑

Tabla 3. Piensos Micoalga-Feed desarrollados.

T-1	Control con corrector 1	T-5	Control con corrector 2
T-2	CS1 + hongos (M1)	T-6	CS2 + hongos (M1)
T-3	CS1 + microalgas (Cv)	T-7	CS2 + microalgas (Cv)
T-4	CS1 + hongos (M1) + microalgas (Cv)	T-8	CS2 + hongos (M1) + microalgas (Cv)

Tabla 4. Efecto inmunomodulador (arriba) y antiinflamatorio (abajo) de los piensos con corrector salino 1 (izquierda) y corrector salino 2 (derecha).

		CONTROL	+H	+A	+HA			CONTROL	+H	+A	+HA
C S 1	Células de defensa "inactivas"					C S 2	Células de defensa "inactivas"				
	IL-1 β	C	=	C	C		IL-1 β	C	=	C	C
	IL-1 β	=	=	↑	↑		IL-1 β	=	=	↑	↑
	Células de defensa "activas"						Células de defensa "activas"				
	IL-1 β	=	↓	=	=		IL-1 β	=	=	=	=
	IL-6	=	↓	=	=		IL-6	=	=	=	=

Tabla 5. Efecto inmunomodulador (arriba) y antiinflamatorio (abajo) de los digeridos con corrector 1 (izquierda) y corrector 2 (derecha).

		CONTROL	+H	+A	+HA			CONTROL	+H	+A	+HA
C S 1	Células de defensa "inactivas"					C S 2	Células de defensa "inactivas"				
	IL-1 β	=	=	=	↑		=	=	↑	↑	C
	IL-6	=	=	=	↑		=	=	↑	↑	C
	Células de defensa "activas"						Células de defensa "activas"				
	IL-1 β	=	=	=	=		IL-1 β	=	=	=	=
	IL-6	=	=	=	=		IL-6	=	=	=	=

go M1 respecto a una de microalga Cv para que la combinación sea efectiva.

Producción de pienso y evaluación de efectos funcionales

En base a los resultados obtenidos en la fase anterior, se desarrollaron piensos a los que se incorporó el hongo M1 y la microalga Cv, además del pienso control. Estos cuatro piensos se hicieron por duplicado con dos correctores diferentes, obteniendo así un total de ocho piensos Micoalga-Feed, como se detalla a continuación en la **Tabla 3**.

Siguiendo el mismo protocolo que en el cribado *in vitro*, se hizo un análisis de la capacidad antimicrobiana, inmunomoduladora y antiinflamatoria de los ocho piensos. En la **Tabla 4** se detallan los resultados de los piensos control.

En base a los resultados obtenidos, se puede apreciar que ningún pienso proporcionó resultados positivos de capacidad antimicrobiana.

Simulación de la digestión gastrointestinal aviar

Era importante analizar la capacidad de los piensos tras el paso por el sistema gastrointestinal aviar, pues serán los digeridos los que sean asimilados por el animal. Para ello, se empleó un simulador de la digestión gastrointestinal aviar que incluía el buche, estómago e intestino delgado, reproduciendo las condiciones de temperatura, tiempo y pH de cada sección del aparato digestivo.

En la **Tabla 5** se detallan los resultados de los digeridos que incluían el corrector 1 (CS1) y el corrector 2 (CS2).

Al igual que en el caso anterior, ninguno de los digeridos demostró capacidad antimicrobiana.

Conclusiones de los ensayos "in vitro"

Tras los ensayos *in vitro* realizados en los ocho prototipos del pienso Micoalga-Feed, podemos concluir que, en cuanto a:

- Capacidad antimicrobiana: Los resultados en las condiciones ensayadas no han sido satisfactorios tanto en el caso de los ingredientes y sus combinaciones, como de los piensos formulados y sus digeridos.
- Efecto inmunomodulador: La combinación del hongo M1 con la microalga Cv es la que mejores

resultados *in vitro* ha demostrado, dado que muestra un efecto inmunoestimulante tanto en los piensos como en el digerido, independientemente del corrector que se utilice.

- Efecto antiinflamatorio: Ninguno de los piensos formulados ha mostrado un resultado negativo en cuanto a la actividad inmunomoduladora o antiinflamatoria, tanto de los piensos como de sus digeridos.

Evaluación "in vitro" en granja experimental

La última fase del proyecto consistió en el ensayo *in vitro* en una granja experimental, donde se midieron diferentes parámetros en granja y en una planta procesadora de aves.

En la granja experimental se midieron los consumos y pesos semanales por celda, el registro de mortalidad diario, el consumo total de agua, la temperatura y humedad relativa, el estudio de los indicadores de bienestar animal a 15 y 42 días y, por último, se tomaron muestras de heces a los 15, 28 y 42 días. En cuanto a la planta procesadora de aves, se midieron la homogeneidad del lote y el porcentaje de segundas, los rendimientos, se realizó un estudio de calidad de la carne en cuanto a pH, color y miopatías, se tomaron muestras de sangre para la realización de un hemograma y la determinación de citoquinas y, además, se hizo un estudio de vida útil y análisis sensorial en carne de distintos lotes.

Se concluyó que, en relación con los resultados de índices zootécnicos, hubo diferencias muy significativas entre los grupos que recibieron los piensos Micoalga-Feed con respecto al lote control. Tanto los pesos en vivo como los consumos fueron inferiores durante todo el ciclo, sin embargo, en cuanto a la eficiencia productiva (relación consumo/crecimiento) fue mejor en estos lotes a excepción del lote que combinaba ambos aditivos. Se consideró la existencia de un efecto sobre la palatabilidad que pudiera ser la causa del descenso de los consumos en los grupos de pienso experimental Micoalga-Feed.

Por último, se observó que la mortalidad en las aves alimentadas con el pienso Micoalga-Feed disminuyó hasta más del 50% con respecto a aquellas alimentadas con un pienso comercial. **MG**



MICOALGA-FEED es un proyecto de innovación cofinanciado en un 80% por el Fondo Europeo Agrícola de Desarrollo Rural (FEADER) de la Unión Europea y en un 20% por el Ministerio de Agricultura,

Pesca y Alimentación en el marco del Programa Nacional de Desarrollo Rural (PNDR) 2014-2020. La Dirección General de Desarrollo Rural, Innovación y Formación Agroalimentaria (DGDRIFA) es la autoridad encargada de la aplicación de dichas ayudas. **Presupuesto total:** 523.259,66 €; **Subvención total:** 505.519,66 €

La solución ganadora para el destete

Tradilait

Leche maternizada para ruminantes

Rumipack

Núcleos para piensos de arranque

