

**Evaluación de parámetros productivos de gallinas ponedoras de la línea HY – LINE
BROWN suplementadas con un consorcio de microorganismos probióticos.**

**Trabajo de grado para optar al título de
Industrial Pecuario**

Sebastian Seguro Ocampo

Asesores

Luz Adriana Gutiérrez

MSc Biotecnología - Bióloga

Oswaldo Bedoya

MSc Ciencias Animales - Industrial Pecuario

Corporación Universitaria Lasallista

Facultad de Ciencias Administrativas y Agropecuarias

Industrias Pecuarias

Caldas - Antioquia

2014

Tabla de contenido

Introducción	8
Justificación	9
Objetivos	10
General	10
Específicos	10
Marco teórico	11
Historia de los probióticos	13
Características de los probióticos:.....	15
Características de las levaduras:	16
Características del <i>Bacillus Clausii</i> :	18
Materiales y Métodos.....	20
1. <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	21
2. <i>Bacillus clausii</i>	21
3. <i>Lactococcus Lactis</i>	21
Resultados	24
Estudio de Costos.....	29
Discusiones	34
Conclusiones	36
Recomendaciones.....	37

Referencias..... 38

Lista de tablas

Tabla 1. Cronograma de alimentación para 20 gallinas durante 18 semanas.	23
Tabla 2. Resumen de las tablas (3, 4 y 5) de algunos parámetros zootécnicos.....	28
Tabla 3. Plan de alimentación para 2000 gallinas.....	30
Tabla 4. Estructuración del costo para el montaje de 2000 gallinas.	31
Tabla 5. Depreciaciones del CIF, MPD, MOD y determinación de venta por unidad.	32

Lista de figuras

Figura 1. Comparación de pesos entre tratamientos	25
Figura 2. Comparación de tamaños entre tratamientos.....	25
Figura 3. Comparación de pesos entre tratamientos	26
Figura 4. Comparación de tamaños entre tratamientos.....	27
Figura 5. Comparación de porcentaje de postura entre tratamientos	27

Resumen

Con el fin de evaluar el efecto de la inclusión, en la dieta de las gallinas de la línea HY – LINE BROWN, de un consorcio de microorganismos probióticos a base de las cepas *Saccharomyces cerevisiae*, *Bacillus clausii* y *Lactococcus Lactis* se realizó una investigación en los laboratorios de Microbiología, Biotecnología y en el Centro de Practicas Santa Inés de la Corporación Universitaria Lasallista, ubicada en el municipio de Calda (Antioquia), entre marzo y octubre de 2014. El diseño fue completamente aleatorizado y se evaluaron dos tratamientos para dos replicas: El primero fue el tratamiento (T1) (control) en el cual se alimentó con un 50% concentrado comercial y 50% con maíz, el segundo grupo el tratamiento con probióticos (T2) (experimento), se alimentó con un 50% concentrado comercial y 50% con maíz, además fue suplementado en el agua con el consorcio de probióticos suministrándolos una vez por semana. La primera replica se inició con 20 gallinas, de 17 semanas apenas en inicios de posturas, se sacaron 2 lotes de 10 gallinas cada uno y se evaluaron para esta primera replica fueron 1422 huevos entre los dos tratamientos (T1 y T2), correspondiendo para T1 de 633 y para el T2 789 huevos. La segunda replica se inició con 18 gallinas, fueron establecidas de 9 gallinas por tratamiento de 45 semanas cumplidas, tuvo un tiempo de duración de 32 días y se obtuvo un total de 490 huevos para ambos tratamientos, correspondiendo para T1 de 231 y para el T2 259 huevos, observando diferencias en peso, tamaño del huevo y cantidad de posturas diarias entre los dos tratamientos. Los animales que recibieron la mezcla probiótica tuvieron una mayor producción en todo el periodo, hubo diferencias ($P < 0,05$) en el porcentaje de posturas, peso y tamaño del huevo a favor del tratamiento con la mezcla probiótica.

Se concluye que es posible emplear este consorcio de microorganismos en la alimentación de gallinas ponedoras, ya que se obtuvo un 10,7% más de posturas que en el control, un 6% más en el peso del huevo y un 3% más en el tamaño del huevo así como positivos indicadores de conversión en huevo por cada kilogramo de alimento.

Palabras claves:

Probióticos, levaduras, suplementación, dieta, microorganismos, *bacillus*, antibióticos promotores de crecimiento (APC).

Introducción

En los sistemas de producción avícola se vienen presentando diferentes problemas debido al uso recurrente de los antibióticos promotores de crecimiento (APC), que a través de los años han generado inmunoresistencia a patógenos, dificultando cada vez más los controles para estos mismos, es por ello que con esta investigación se pretende generar alternativas que contribuyan al aumento de producción limpia de antibióticos promotores de crecimiento (APC)

En la producción pecuaria es fundamental el balance intestinal del animal, pues de esto depende el estado productivo del mismo, las condiciones intestinales favorables, que se puedan lograr por medio de la suplementación con un consorcio de microorganismos probióticos, se espera ver reflejada directamente en el estado corporal del animal, en este caso la gallina y por supuesto su producto, el huevo.

Justificación

Actualmente los sistemas de producción animal tienen como objetivo aumentar la producción, afectando en algunos casos el bienestar animal, lo que puede llevar en algunos casos a la disminución del sistema inmune, generando serias pérdidas para el productor, sin embargo hay sectores en la producción pecuaria que han crecido ostensiblemente como es el de la producción y consumo de huevo de gallina tal cual como lo demuestra el Departamento Administrativo Nacional de Estadística (DANE) y la Federación Nacional de Avicultores en Colombia (FENAVI) pasando de 168 huevos per cápita en 1998 a 236 huevos en 2013.

Para dar una respuesta a esta demanda, no solo en termino de productividad, sino también de calidad, es importante buscar estrategias que trabajen en procura de estos objetivos; la suplementación nutricional con microorganismos probióticos, se ha documentados como una de las propuestas limpias para la alimentación funcional en animales monogástricos.

Este trabajo es importante ya que se pretenderá evaluar la implementación de un consorcio de microorganismos probióticos, conjunto a una dieta balanceada, con el fin de denotar y encontrar particularidades en la producción y el bienestar de las aves. Los beneficios que trae la utilización de microorganismos suplementados en Gallinas son la disminución de los antibióticos promotores del crecimiento (APC), que hoy en día se utilizan en la mayoría de las casas de concentrados y así eliminar la dependencia de productos químicos artificiales con el fin de obtener huevos orgánicos de mayor composición nutricional.

Objetivos

General

Evaluar los parámetros productivos de Gallinas ponedoras de la línea Hy – Line Brown, suplementadas con un consorcio de microorganismos probióticos, bajo condiciones controladas.

Específicos

- ▣ Evaluar el efecto de un consorcio de microorganismos probióticos como suplemento nutricional en gallinas ponedoras de la línea Hy – Line Brown sobre la producción de huevos.
- ▣ Comparar el efecto en las gallinas ponedoras de la línea Hy – Line Brown con las dietas suplementadas y no suplementadas con microorganismos.
- ▣ Evaluar los costos de producción versus el efecto directo de los probióticos sobre los parámetros productivos de la gallina.

Marco teórico

Las aves fueron domesticadas hace miles de años y durante el proceso de domesticación han sido manipuladas genéticamente por el hombre estableciendo así variedades locales y seleccionando con base a determinados caracteres. Los avances genéticos logrados en los últimos cincuenta años han fundamentado la base de una industria avícola moderna que constituye la mayor fuente de proteína animal en la mayoría de países de todo el mundo. Los desarrollos recientes del conocimiento y la tecnología han cambiado la dinámica de la reproducción avícola (Hennequin C, 2000).

Por otra parte en los años 1960 se incursionó en la implementación de los antibióticos promotores de crecimiento (APC) en el concentrado y estos en su momento tuvieron un auge muy importante, porque controlaron grandes cantidades de enfermedades causadas por microorganismos patógenos en animales de granja, especialmente monogástricos, pero con el uso tan recurrente de los antibióticos promotores de crecimiento (APC) se generaron consecuencias bien particulares, como la resistencia antibiótica inducida en algunas cepas de microorganismos patógenos.

La Unión Europea, prohibió el uso de los APC desde el año 2006; en Colombia esta prohibición se impartirá a partir del 2015. En vista de esta problemática se ha ido buscando alternativas que reemplacen los antibióticos promotores de crecimiento (APC) y que sea viable para el beneficio y la salud animal, desde luego generando alimentos mucho más sanos, que es la búsqueda de la producción más limpia.

“La Producción más Limpia puede aplicarse a cualquier proceso, producto o servicios y contempla desde simples cambios en los procedimientos operacionales de fácil e inmediata

ejecución, hasta cambios mayores, que impliquen la sustitución de materias primas, insumos o líneas de producción por otras más eficientes”(PNUMA, 1992)

A continuación se citan varios beneficios que serán alcanzados por las empresas una vez hayan incursionado en procesos de producción más Limpia:

- Posicionarse competitivamente en el mercado nacional e internacional de cara a los tratados de libre comercio.
- Responder a las tendencias internacionales que emergen en cuanto a normas y estándares ambientales.
- Influir en el desempeño ambiental de las empresas nacionales.
- Contribuir al cumplimiento de la legislación ambiental vigente.
- Generar el consumo y la demanda de productos elaborados con enfoque de Producción más Limpia.

Como estrategia natural y ampliamente aceptada en el sector animal, están los probióticos, su consumo prolongado y por supuesto en cantidades apropiadas favorecen considerablemente la salud intestinal del hospedero; así que suplementar a los animales con microorganismos probióticos ha sido una de las estrategias que ha generado innumerables beneficios, especialmente porque los microorganismos probióticos, por su metabolismo tan avanzado y por su capacidad de generar metabolitos a nivel intestinal favorecen la salud intestinal del animal.

Historia de los probióticos

El término probiótico es una palabra relativamente nueva que significa “a favor de la vida” y actualmente se utiliza para designar las bacterias que tienen efectos beneficiosos para los seres humanos y los animales. La observación original de la función positiva desempeñada por algunas bacterias se atribuye a Eli Metchnikoff, ruso galardonado con el premio Nobel por sus trabajos en el Instituto Pasteur a comienzos del siglo pasado, que afirmó que "la dependencia de los microbios intestinales con respecto a los alimentos hace posible adoptar medidas para modificar la flora de nuestro organismo y sustituir los microbios nocivos por microbios útiles" (Metchnikoff, 1907).

“El grupo de *Lactobacillus* hace parte de las bacterias ácido lácticas (BAL), las cuales han sido reconocidas como seguras para ser utilizadas en alimentos” (FAO, 2002). Las B.A.L especialmente los *Lactobacillus* favorecen toda la parte intestinal de los animales especialmente en monogástricos puesto que acidifican el medio impidiendo así la proliferación de bacterias patógenas proporcionando un intestino más sano y seguro para los procesos metabólicos, por ello también se aumenta la absorción de nutrientes a nivel intestinal logrando así la colonización del medio, donde se adhieren a las paredes intestinales logrando formación de antibióticos y bacteriocinas.

El término de probiótico hace referencia a la década de los años 60 cuando las obras de Metchnikoff y Tissier fueron las primeras en las que se hicieron propuestas con respecto a la utilización probiótica de bacterias, esto se llevó a cabo para implementar y decir que estos probióticos favorecían el crecimiento de diferentes microorganismos y de ahí sale una nueva definición que dice "un suplemento dietético a base de microbios vivos que afecta

beneficiosamente al animal huésped mejorando su equilibrio intestinal". Havenaar y Huis in 't Veld (1992) propusieron una definición muy similar: "un monocultivo o cultivo mixto viable de bacterias que, cuando se aplica a animales o seres humanos, afecta beneficiosamente al huésped mejorando las propiedades de la flora autóctona". Una definición más reciente, aunque probablemente no será la última, es la siguiente: " microorganismos vivos que, cuando se consumen en cantidades apropiadas, confieren al huésped efectos saludables " (Guarner y Schaafsma, 1998).

Estudios realizados por la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí en Ecuador donde realizaron la "Evaluación de una mezcla probiótica en la alimentación de gallinas ponedoras en una unidad de producción comercial" (Pérez et al, 2012), encontraron un aumento significativo en la producción de un 10% con relación a las aves no expuestas a esta mezcla probiótica, además de disminuir el porcentaje de conversión alimenticia, donde se encontró que estas aves expuestas a este consorcio de probióticos daban huevos más grandes por la misma cantidad de alimento suministrado para ambos tratamientos. "El empleo de la mezcla de *L. salivarius* y *B. subtilis* en la dieta de las ponedoras representó una mejora en los indicadores porcentaje de postura, huevo alojado por ave por semana y conversión en huevo por cada kilogramo de alimento consumido, con respecto a los animales que no recibieron esta mezcla microbiana. Debe destacarse que en la semana 40 –la primera del experimento– no se apreció diferencia entre los tratamientos, lo que indicó que aún no se había manifestado el efecto del producto" (Pérez et al, 2012).

Características de los probióticos:

El concepto de probiótico probablemente data de 1908, cuando el investigador Eli Metchnikoff sugirió que la larga vida de los campesinos en Bulgaria, era el resultado del consumo de los productos de leche fermentada que contenía bacterias ácido lácticas, las cuales en su mayoría presentan actividad probiótica (Metchnikoff, 1908).

Según la FAO los probióticos son definidos como un cultivo de microorganismos vivos que consumido en cantidades adecuadas beneficia al animal, mejorando el equilibrio de su microbiota intestinal.

Para que un microorganismo sea designado como probiótico debe cumplir unas determinadas características, resumidas por Ewing y colaboradores en 1994:

1. Seguro para el animal, sin causar enfermedad ni toxicidad.
2. Resistente al pH gástrico y a las sales biliares
3. Capacidad de colonización del intestino: solo algunas cepas se adhieren al epitelio intestinal. Esto es necesario para lograr una exclusión competitiva eficaz.
4. Capacidad de inhibir el crecimiento de patógenos tanto Gram positivos como Gram negativos; uno de ellos son los serotipos de *Escherichia coli* patogénicas, al producir ácidos u otras sustancias que inhiban su crecimiento.
5. Ser estable durante el proceso de producción, comercialización y distribución para que pueda llegar vivo al intestino.
6. Estables y viables durante el almacenaje. Hay que tener en cuenta si el microorganismo usado es aerobio o anaerobio para conservarlo adecuadamente.

Características de las levaduras:

Saccharomyces cerevisiae es una levadura, un hongo unicelular, del grupo de los ascomicetos. Este grupo incluye a más de 60.000 especies, entre ellas las trufas o el *Penicillium*, el hongo que produce la penicilina.

En la naturaleza se encuentra sobre sustratos ricos en azúcares o en los exudados y savias dulces de algunas plantas, algunos propicios de clima frío y otros de clima medio en muy poca población casi nula en zonas desérticas con baja humedad y mucha exposición al sol.

El término "levadura" (de "levare" en la acepción de subir o levantar) remite a la experiencia visual de la masa del pan que se "levanta" cuando se añade levadura a la harina. Su nombre alternativo de "fermento" viene del latín *fervere*, que quiere decir hervir y proviene del movimiento del mosto durante la producción de vino o cerveza.

La levadura *Saccharomyces cerevisiae* es un hongo ascomiceto unicelular. “Los hongos son organismos eucarióticos (sus células tienen una organización interna en orgánulos membranosos) quimio heterótrofos”. (Romano P. 1992)

Las levaduras son consideradas proteína unicelulares por ser rica en péptidos y aminoácidos de muy alto valor biológico, entre las propiedades nutricionales de la levadura cabe también destacar que tiene los siguientes nutrientes: hierro, calcio, fibra, yodo, zinc, carbohidratos, vitamina A, vitamina B5, vitamina B7, vitamina B12, vitamina C, vitamina D, vitamina E, vitamina K y fósforo. La levadura es el producto natural con el contenido más alto de vitaminas del grupo B. (McIntosh F.M. 1995).

Todos estos compuestos tienen una gran influencia en la actividad del sistema inmunológico de los animales y en el desarrollo de la microbiota benéfica del rumen y del

intestino de los animales monogástricos. “La levadura de cerveza es un ingrediente ampliamente reconocido por sus características organolépticas, mejorando la palatabilidad de los piensos” (Ramón D. 1992).

La pared celular de la levadura está compuesta por manano-oligosacáridos y beta-glucanos que tienen una influencia importante en la protección contra la colonización de bacterias patógenas y también promueven el crecimiento de los macrófagos.

La levadura es rica en proteínas y péptidos que, además de tener un perfil de aminoácidos de muy alto valor biológico, también ejercen unos “efectos para hormonales” que mejoran la actividad de sistema inmunológico.

Investigaciones realizadas por la Comunidad Económica Europea se comprobó que el uso de antibióticos deja residuos en los alimentos especialmente huevos y carne de aves, por lo que las levaduras serían una alternativa para la obtención de un producto libre de residuos.

Características del *Bacillus Clausii*:

Bacillus clausii es una bacteria en forma de vara, Gram-positivas, móviles y formadora de esporas que vive en el suelo, está rodeada por una pared celular gruesa. La pared celular se compone de la peptidoglicano. *B. clausii* es un microbio productor de endosporas que crea elipsoidales Spored que se encuentra subterminalmente o paracentralmente en el esporangio. Las esporas de *B. clausii* son resistentes a muchos antibióticos como eritromicina, lincomicina, cefalosporinas y cicloserina. Este microorganismo está siendo estudiado principalmente en los trastornos gastrointestinales y en las infecciones respiratorias.

Las esporas de *B. clausii* y otros bacilos relacionados se utilizan como probióticos para mejorar el equilibrio microbiano intestinal durante los períodos de uso de antibióticos, esto favorece la implementación de este microorganismo en los diferentes sistemas de producción, principalmente en monogástricos, donde ya se tienen estudios con excelentes resultados, además modifican la función del sistema inmune del tracto gastrointestinal y actúan como los propios agentes anti-microbianos. Tratamientos que contienen probióticos están disponibles para la nutrición humana, los suplementos de la alimentación animal, así como para la acuicultura. “Un antibiótico resistente probiótico conocido como Enterogermina consta de 4 cepas de microbios *Bacillus*, todos los cuales fueron recientemente reclasificados de *B. subtilis* a *B. clausii*. Enterogermina se utiliza en particular en el tratamiento de la diarrea y la prevención de enfermedades gastrointestinales infecciosas. Aunque no se entiende completamente, se cree que las secreciones enzimáticas de *B. clausii* durante la esporulación conducen a este efecto positivo en el tracto GI; durante la esporulación, se encontró que las cepas de Enterogermina

para liberar compuestos antimicrobianos y modulan la actividad inmune mediante el aumento de la producción de inmunoglobulina A secretora” (Casula 2002).

Las esporas de resistencia a los antibióticos hacen que sea especialmente útil para su uso en conjunción con el tratamiento con antibióticos para otros patógenos. *Bacillus clausii* resistencia a muchos antibióticos, se usa en el tratamiento de enfermedades gastrointestinales para restaurar la flora intestinal a causa de su resistencia a los antibióticos y la capacidad de estimular la actividad inmune.

Investigaciones realizadas por Bozdogan Blent en el Servicio de Microbiologie en Caen, Francia ha puesto de manifiesto un par de genes relacionados con el MTC 846-base de *Bacillus clausii* que confiere resistencia a determinados antibióticos. “MTC proteínas ribosomales son metilasas que monomethylate o dimethylate un cierto adenina en 23S ARNr, que cuando metilado podría obligar a macrólidos tales como eritromicina, azitromicina, espiramicina, lincomicina, clindamicina, y pristinamicina I. Este gen relacionado ERM en *B. clausii* cepa DSM 8716 fue denominado ERM”. (Bozdogan, B., S. Galopin y R. Leclercq 2004).

Materiales y Métodos

El diseño experimental propuesto para el proyecto fue un diseño completamente aleatorizado en la cual se incluyeron dos tratamientos T1 y T2, donde T1 era el control y T2 el experimento y los factores fueron peso y tamaño de huevo.

En la segunda réplica del experimento se incluyó además de peso y tamaño, porcentaje de postura.

$$X_{ij} = \mu_{ij} + \tau_i + \varepsilon_{ij}$$

Ecuación general para el proyecto

Este estudio se realizó en los laboratorios de Microbiología, Biotecnología y en el Centro de Practicas Santa Inés de la Corporación Universitaria Lasallista

El consorcio de microorganismos suministrados en el agua a gallinas ponedoras fue preparado previamente en el laboratorio, garantizando la inocuidad y asegurando UFC de 1×10^8 , tanto para levaduras como para los probióticos. Se utilizaron equipos como balanza para preparación de medios en laboratorio: 120 grs. x 0.001 gr, cabina anti viento de vidrio templado.

Luego de tener los medios y de inocular los microorganismos en las diferentes cajas de Petri se incubaban en incubadora para el crecimiento de los probióticos: 38 a 40°C x 48 a 60 horas, (dependiendo del crecimiento en los medios).

Para la producción de los probióticos se emplearon medios selectivos para cada uno así:

1. *Saccharomyces cerevisiae*.

Se obtuvo de forma liofilizada y fue diluida hasta una concentración de 1×10^8 UFC/ml, por medio de patrón de Macfarlán, con diluciones posteriores. Todo este proceso se realizó con agua esterilizada.

2. *Bacillus clausii*.

Se obtuvo de cepas comerciales y se reprodujo en agar Plate count para bacterias esporuladas, luego se diluyó en el agua de consumo a una concentración de 1×10^8 UFC/ml, por medio de patrón de Macfarlán, con diluciones posteriores. Todo este proceso se realizó con agua esterilizada.

3. *Lactococcus Lactis*.

Se obtuvo de cepas comerciales y se reprodujo en agar selectivo para bacteria ácido lácticas MRS, luego se diluyó en el agua de consumo a una concentración de 1×10^8 UFC/ml, por medio de patrón de Macfarlán, con diluciones posteriores. Todo este proceso se realizó con agua esterilizada.

El experimento in vivo se realizó en el Centro de Prácticas Santa Inés de la Corporación Universitaria Lasallista, ubicada en el municipio de Calda (Antioquia), con 20 gallinas, de 17 semanas apenas en inicios de posturas, se sacaron 2 lotes de 10 gallinas cada uno. El primero fue el tratamiento de control (T1) en el cual se alimentó con un 50% concentrado comercial y 50%

con maíz, (la composición del maíz y el concentrado en cada una de las etapas se detalla en la Tabla 1.0) y el segundo grupo el tratamiento con probióticos (T2), se alimentó con un 50% concentrado comercial y 50% con maíz, (la composición del maíz y el concentrado en cada una de las etapas se detalla en la Tabla 1.0) además fue suplementado en el agua con el consorcio de probióticos suministrándolos una vez por semana durante 11 semanas, la cantidad de agua con probióticos se suministró en una proporción de 1500ml/día.

Para la segunda replica se inició con los tratamientos (T1) y tratamiento (T2), donde el tratamiento (T1) es el control y el tratamiento (T2) es el experimental. Esta investigación se llevó a cabo con 18 gallinas de la línea HY – LINE BROWN y fueron establecidas de 9 gallinas por tratamiento de 45 semanas cumplidas. Se trabajó con 18 gallinas debido a que en el tratamiento (T1, control) se presentó muerte de una gallina, por lo tanto se realizó el retiro de una gallinas del tratamiento (T2, experimento) con el fin de igualar número de individuos y así poder cuantificar el porcentaje de postura y de igual forma medir peso y tamaño en el tiempo y tener resultados iguales a los anterior mente mostrados en la primera replica.

Los huevos de ambos tratamientos fueron pesados y medidos diariamente, además se realizó la comparación con el fin de cuantificar los resultados, se utilizó balanza electrónica de bolsillo de alta precisión: 200gr x 0,1gr, sensor indicador de alta precisión, para pesaje de los huevos y pie de rey para medición de tamaño del huevo: En la escala de las pulgadas tiene divisiones equivalentes a 1/16 de pulgada y en su nonio, de 1/128 de pulgadas.

Tabla 1. Cronograma de alimentación para 20 gallinas durante 18 semanas.

PLAN DE ALIMENTACION PARA 20 GALLINAS			
SEMANAS	CONSUMO DE ALIMENTO POR ANIMAL / DÍA /GRAMOS	CONSUMO DE ALIMENTO POR 20 AVES EN KG / DÍA	CONSUMO DE AGUA PARA 20 AVES/DÍA/L
16	83,5	1,67	3
17	88	1,76	3
18	92,5	1,85	3
19	92,5	1,85	3
20	94,5	1,89	3
21	98	1,96	3
22	101	2,02	3
23	106	2,12	3
24	110	2,20	3
25	113	2,26	3
26	117	2,34	3
27	120	2,40	3
28	122	2,44	3
29	124	2,48	3
30	126	2,52	3
31	131	2,62	3
32	131	2,62	3
33	131	2,62	3
	1981	39,62	54
			TOTAL

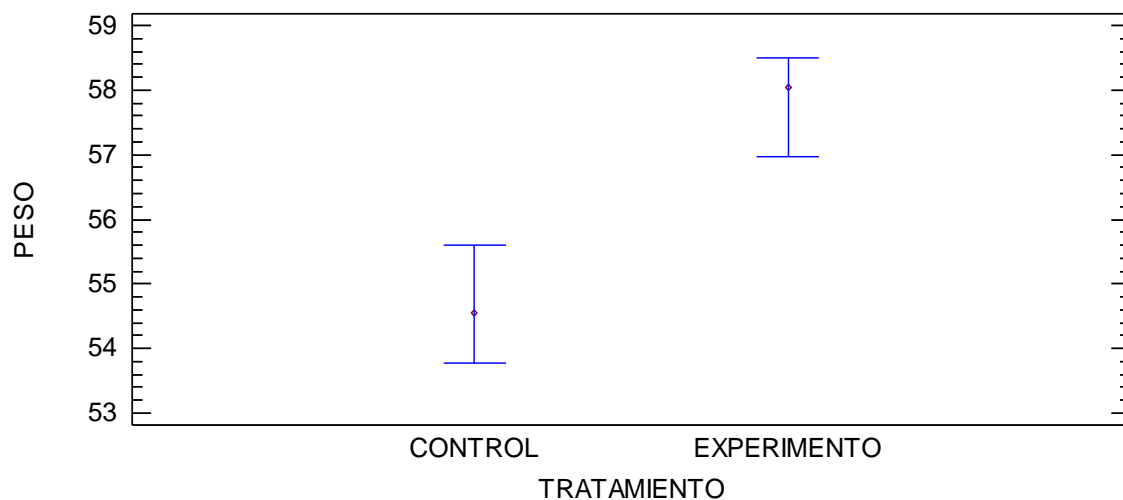
Resultados

Al inicio del experimento, cuando aún no se había empezado la suplementación con los probióticos los resultados encontrados de los pesos promedios obtenidos en los tratamientos: T1 control y T2 experimental, fueron de 55,46gr y el tamaño fue de 5,39mm para T1; y para T2, experimental, 54,14gr de peso promedio en el huevo y un tamaño de 5.32mm, indicando que el tratamiento T1 superaba en promedio de peso 1,32g y en tamaño aproximadamente 0,06mm con respecto al T2.

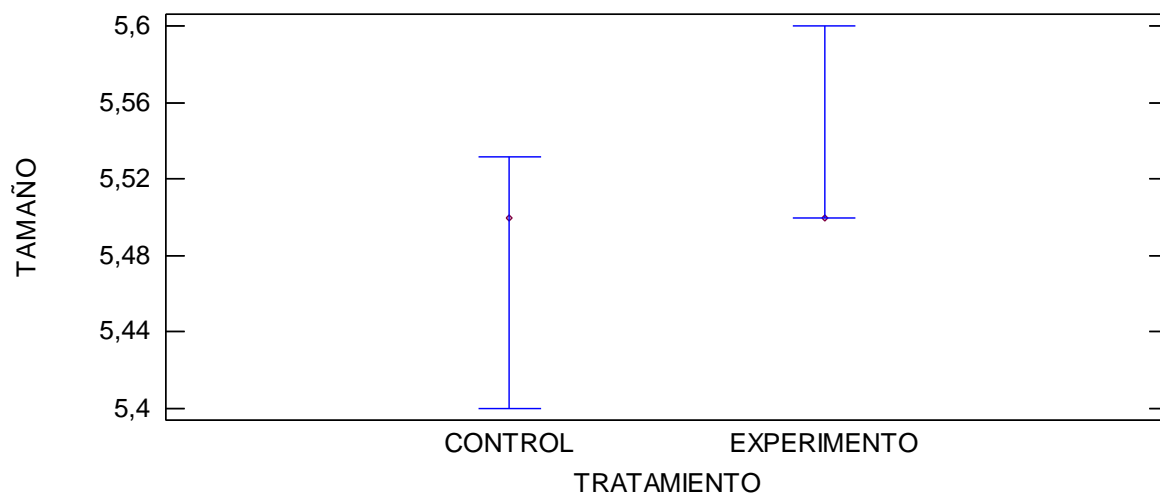
Se realizaron dos replicas con la suplementación del consorcio probiótico en las gallinas ponedoras, el tiempo de experimento de la primera réplica tuvo una duración de 90 días y se contabilizaron un total de 1422 huevos obtenidos de los dos tratamientos, correspondiendo para T1 633 y para T2 789 huevos, observando diferencias en peso y tamaño de los mismos en los dos tratamientos. Los resultados son mostrados en la figura 1 y 2, en donde se observa la diferencia en los promedios obtenidos en las medidas de peso para cada uno de los experimentos.

El tiempo de duración de la segunda replica fue de 32 días y se obtuvo un total de 490 huevos de ambos tratamientos, correspondiendo para T1 de 231 y para el T2 259 huevos, observando diferencias en peso, tamaño del huevo y cantidad de posturas diarias entre los dos tratamientos.

Los resultados son mostrados en la figura 3, 4 y 5, en donde se observa la diferencia en los promedios obtenidos en las medidas de peso para cada uno de los experimentos.

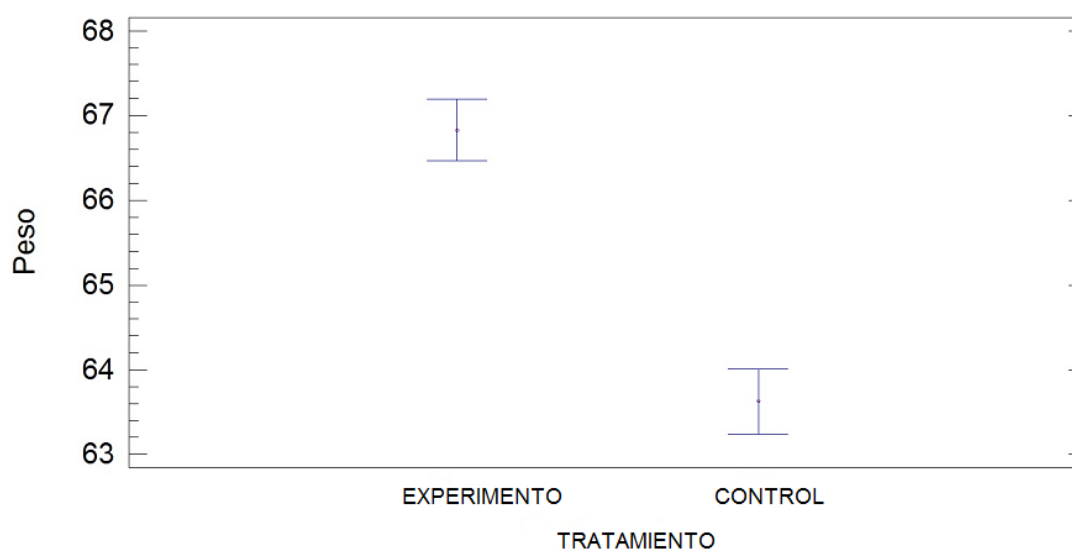
Figura 1. Comparación de pesos entre tratamientos

La figura 1. muestra como el tratamiento (T2, experimento) supera en peso al tratamiento (T1, control), con un valor P menor a 0,000 lo cual indica, puesto que el valor-P de la prueba-F es menor que 0,05, existe una diferencia estadísticamente significativa entre la media de LOG(PESO) entre un nivel de TRATAMIENTO y otro, con un nivel del 95,0% de confianza.

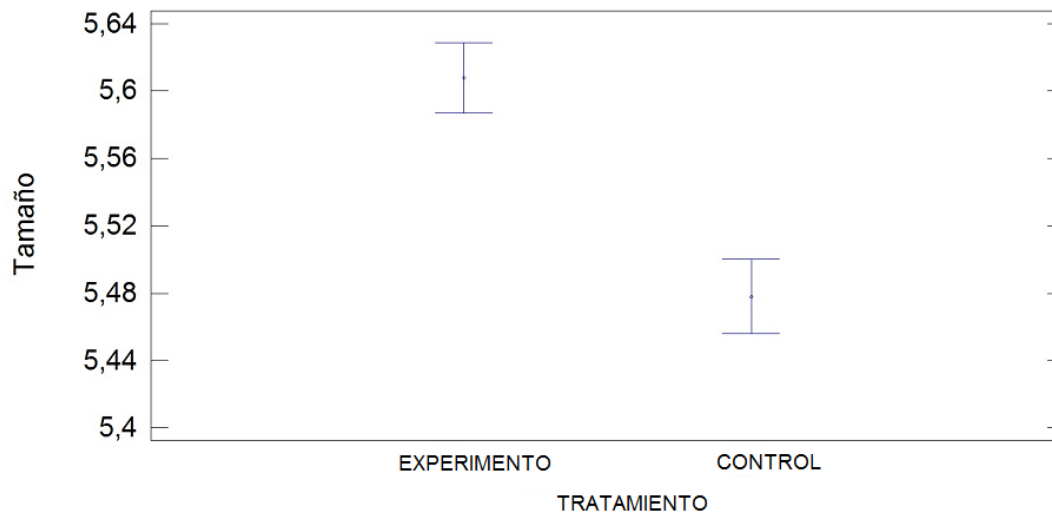
Figura 2. Comparación de tamaños entre tratamientos

La figura 2. muestra como el tratamiento (T2, experimento) supera en tamaño al tratamiento (T1, control), con un valor P menor a 0,0375 lo cual indica, puesto que el valor-P de la prueba-F es menor que 0,05, existe una diferencia estadísticamente significativa entre la media de LOG(TAMAÑO) entre un nivel de TRATAMIENTO y otro, con un nivel del 95,0% de confianza.

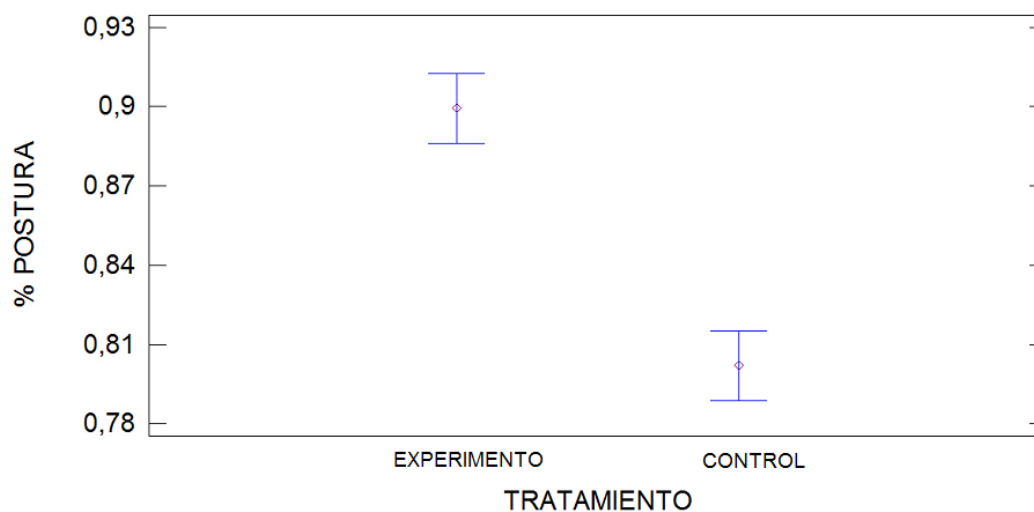
Figura 3. Comparación de pesos entre tratamientos



La figura 3. muestra como el tratamiento (T2, experimento) supera en peso al tratamiento (T1, control), con un valor P menor a 0,000 lo cual indica, puesto que el valor-P de la prueba-F es menor que 0,05, existe una diferencia estadísticamente significativa entre la media de LOG(PESO) entre un nivel de TRATAMIENTO y otro, con un nivel del 95,0% de confianza.

Figura 4. Comparación de tamaños entre tratamientos

La figura 4. muestra como el tratamiento (T2, experimento) supera en tamaño al tratamiento (T1, control), con un valor P menor a 0,0115 lo cual indica, puesto que el valor-P de la prueba-F es menor que 0,05, existe una diferencia estadísticamente significativa entre la media de LOG(TAMAÑO) entre un nivel de TRATAMIENTO y otro, con un nivel del 95,0% de confianza.

Figura 5. Comparación de porcentaje de postura entre tratamientos

La Figura 5. muestra como el tratamiento (T2, experimento) supera en % de postura al tratamiento (T1, control), con un valor P menor a 0,000 lo cual indica, puesto que el valor-P de la prueba-F es menor que 0,05, existe una diferencia estadísticamente significativa entre la media de LOG(% POSTURA) entre un nivel de TRATAMIENTO y otro, con un nivel del 95,0% de confianza.

En la tabla 2, se muestra las diferencias en promedios para tamaño, peso de los huevos, y porcentaje de postura para los tratamientos T1 y T2, con y sin probióticos, encontrando que el porcentaje de postura aumentó 9,7% más que el control.

Tabla 2. Resumen de las tablas (3, 4 y 5) de algunos parámetros zootécnicos.

Parámetro	Con probióticos	Sin probióticos
Peso (gr)	66,83 ^a	63,62 ^b
Tamaño (mm)	5,60 ^a	5,47 ^b
% postura	89,9 ^a	80,2 ^b

^{ab} Promedios con letras diferentes en la misma fila significa diferencias significativas con un valor $P < 0.05$.

Estudio de Costos

Al realizar el estudio de costos de la investigación, se decidió realizarla sobre un supuesto de 2000 gallinas. En el caso de hacer el estudio de costos sobre la cantidad evaluada en el proyecto correspondiente a 20 gallinas, generaría pérdidas en el ejercicio, porque en este no se tiene en cuenta factores como infraestructura, montaje de la avícola y mano de obra directa entre otros.

Para el estudio de escalado del proyecto, con base a los resultados obtenidos en la investigación, se tomó un lote de 2000 gallinas ponedoras, en aras de sobredimensionar un estudio más objetivo en producción avícola que realmente permitan ganancias sobre el productor, para tal fin se determinó el valor a producir un huevo en un lote de 2000 mil gallinas con la dieta de los probióticos y demostrar la productividad al suministrarlos en la dieta de las aves. La tabla 3 muestra el plan de alimentación para los supuestos de 2000 gallinas

Tabla 3. Plan de alimentación para 2000 gallinas

PLAN DE ALIMENTACION PARA 2000 GALLINAS					
SEMANAS	PESO DEL ANIMAL PROMEDIO EN LIBRAS	CONSUMO DE ALIMENTO POR ANIMAL/DÍA/GRAMOS	CONSUMO DE ALIMENTO POR 2000 AVES EN KG / DÍA	CONSUMO DE ALIMENTO POR SEMANA POR 2000 AVES / KG	CONSUMO DE ALIMENTO POR 2000 AVES / KG
16	3.05	92	184	1288	1288
17	3.05	92	184	1288	1288
18	3.05	92	184	1288	1288
19	3.05	92	184	1288	1288
20	3.05	92	184	1288	1288
21	3.05	92	184	1288	1288
22	3.05	92	184	1288	1288
23	3.05	92	184	1288	1288
24	3.05	92	184	1288	1288
25	3.05	92	184	1288	1288
26	3.05	92	184	1288	1288
27	3.05	92	184	1288	1288
28	3.05	92	184	1288	1288
29	3.05	92	184	1288	1288
30	3.05	92	184	1288	1288
31	3.05	92	184	1288	1288
32	3.05	92	184	1288	1288
33	3.05	92	184	1288	1288
		1656	3312	23184	

Después de establecer el consumo por mes de las 2000 gallinas se realizó el plan de montaje y estructuración de costos para llevar a cabo en el desarrollo del proyecto, delimitando los valores de incremento al suministrar los probióticos en la dieta de las gallinas. La tabla 4 muestra cómo se realizó la estructuración de costos discriminando cada una de las variables implícitas en la producción de un huevo.

Tabla 4. Estructuración del costo para el montaje de 2000 gallinas.

INVERSION EN INSUMOS			
	UNIDADES	COSTO (pesos)	TOTAL
Canastillas (fijo)	10000	60	600000
	TOTAL	60	600000

INVERSION EN INSTALACIONES (equipo)			
	UNIDADES	COSTO (pesos)	TOTAL
Galpones	2	2500000	5000000
Bebederos	20	5500	110000
Comederos	40	9900	396000
Clasificadora de huevos	1	4000000	4000000
	TOTAL	6515400	9506000

INSUMO DE CONCENTRADO / MES			
	UNIDADES	CONSUMO MES / (Kg)	TOTAL CONSUMO POR AVE MES / (Kg)
Gallinas	2000	5520	2,76
	TOTAL	5520	2,76

COSTOS DE CONCENTRADO / MES			
	COSTO POR BULTO (pesos)	TOTAL BULTOS / MES	TOTAL COSTO CONCENTRADO / MES (pesos)
Italcol	38000	138	5244000
	TOTAL	138	5244000

INSUMOS PROBIOTICOS (fijo)				
	UNIDADES POR UFC/ml	COSTOS POR SEMANA	TOTAL COSTO PROBIOTICOS / MES	
Lactococcus Lactis	1x10 ⁸	8750	37450	
Bacillus clausii	1x10 ⁸	8000	34240	
Saccharomyces cerevisiae	1x10 ⁸	1300	5564	
	TOTAL	18050	77254	

Se determinaron los costos de producción y el establecimiento del lote de 2000 gallinas, la tabla 5 muestra las respectivas depreciaciones para cada uno de los factores en el tiempo y se pudo sacar así el valor de venta del huevo con la utilidad deseada y ver la veracidad del bajo incrementó que se da al implementar los probióticos y por el contrario se compara con los aumentos en el peso, tamaño del huevo y porcentaje de postura.

Tabla 5. Depreciaciones del CIF, MPD, MOD y determinación de venta por unidad.

CIF				
	UNIDADES	COSTO	TOTAL	DEPRECIACIONES
Gallinas	2000	12000	24000000	22,222
Bebederos	20	5500	110000	0,015
Comederos	40	9900	396000	0,055
Galpones	2	2500000	5000000	0,694
Canastillas	10000	60	600000	4,000
Clasificadora de huevos	1	4000000	4000000	0,556
COSTO REAL DEL CIF				27,543

MPD				
	VALOR	PRODUCCIÓN HUEVO DÍA	PRODUCCIÓN HUEVO MES	COSTO DE MPD
Concentrado	5244000	1700	51000	102,824
Probióticos	77254	1700	51000	1,515
COSTO REAL MPD				104,338

MOD			
	CANTIDAD DE PERSONAL	TOTAL DEVENGADO	COSTO DE MOD
PERSONAL	1	946914,40	18,567
COSTO REAL DE MOD			18,567

COSTO DEL PRODUCTO	
MPD	104,338
MOD	18,567
CIF	27,543
TOTAL DEL PRODUCTO	150,448

UTILIDAD MARGINAL 214,925
PRECIO DE VENTA 215

Discusiones

Algunos investigadores como Kabir, 2009 y Stephen et al., 2008, determinaron que especies de microorganismos como *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus helveticus*, *Lactococcus lactis* y *Lactobacillus salivarius*, son considerados como probióticos y que los cultivos de *Bacillus spp* y *Sacharomyces sp* aumentan el efecto sinérgico benéfico sobre el animal, cuando son usados conjuntamente en la producción avícola, con resultados satisfactorios.

El empleo de la mezcla de *Saccharomyces cerevisiae*, *Bacillus clausii* y *Lactococcus Lactis*, en la dieta de las gallinas ponedoras representó una mejora en los indicadores zootécnicos alojado por ave por semana y conversión en huevo por cada kilogramo de alimento consumido, con respecto a los animales que no recibieron esta mezcla microbiana, resultados similares fueron obtenidos por Pérez y colaboradores 2012.

Parámetros como el aumento de postura en el huevo no se consideró como variable de estudio desde el inicio de la investigación, sin embargo los resultados en la gallinas demostraron que es posible que los probióticos aumenten la absorción de nutrientes y por lo tanto aumenten esta característica, resultados similares fueron reportados por Acosta y colaboradores en 2007 donde determinaron que el consumo de probióticos mejora el índice de absorción porque estimula el aumento del vello epitelial, aumentando el índice de asimilación de nutrientes, razón que podría ser aplicada probablemente a los resultados obtenidos en este experimento.

La dieta suplementada con probióticos en las gallinas ponedoras, mostró un aumento significativo en los parámetros peso, tamaño, y porcentaje de postura, evidenciados en la réplica dos del experimento. En estudios realizados por (Lima, 2003; Kurtoglu et al., 2004; Jennifer et

al., 2011) encontraron que el uso de biopreparados probióticos en gallinas ponedoras promueve la producción avícola moderna, generando resultados favorables como ganancia en peso y aumento en la coloración del huevo, resultados que corroboran los encontrados en esta investigación.

Se presentó diferencias estadísticamente significativas en el peso de los huevos de $3,21 \pm 0,38$ (gr/día/huevo), en tamaño del huevo fue de $0,32 \pm 0,04$ (mm/día/huevo) y en porcentaje de postura fue de $0,88 \pm 0,11$ (gallina/día), lo cual sugiere que las dietas suplementadas con probióticos, estimulan el aumento en la absorción de nutrientes, favoreciendo los parámetros productivos del animal, en otras investigaciones (Pérez y colaboradores 2012) obtuvieron unos resultados similares cuando suministraban un consorcio de microorganismos probióticos en la dietas de gallinas ponedoras.

Conclusiones

El uso de microorganismos probióticos, es una alternativa de producción limpia en la nutrición animal, mejorando parámetros zootécnicos en aves como peso, tamaño del huevo y eventualmente el porcentaje de postura diaria de las gallinas.

La suplementación con probióticos en la dieta de las gallinas, estimula el aumento en la absorción de nutrientes, favoreciendo los parámetros productivos del animal en la dieta de las gallinas, estos resultados permiten proponer alternativas para el mejoramiento de la producción intensiva del huevo en el pequeño y grande productor.

Recomendaciones

Controlar estrictamente los medios de producción de los probióticos, evitando ser contaminados ya que son susceptibles a un cambio brusco de temperatura y fácil de perder sus propiedades si no se tiene certeza de su naturaleza y las mínimas condiciones de mantenimiento de estos microorganismos.

Cuando se va suministrar en agua se debe tener en cuenta que son microorganismos y si se someten a aguas no tratadas lo más seguro es que al suministrar a las gallinas la población se allá disminuido en gran proporción y lo que aportes no sea lo suficientemente aceptable para lograr buenos resultados.

Por otro lado se recomienda utilizar la suplementación de los probióticos en agua, ya que si se da directamente en el concentrado que es un medio seco no se tiene certeza de la viabilidad de estos microorganismo, debido a que muchos se reproducen en agares y el sustrato que se utiliza para retirarlos es húmedo, puede alterar considerablemente la cantidad de microorganismos a dar y por ende los resultados esperados pueden variar.

Referencias

- Bozdogan, B., S, Galopin y R, Leclercq. (2004). Caracterización de un nuevo gen relacionado con la resistencia a macrólidos eh presente en cepas probióticas de *Bacillus clausii*. *Appl. Environ. Microbiol.* Volumen 70. p. 280-284.
- Calvo, M., Adelantado, C. (2009). Aislamiento y selección de cepas del genero *Lactobacillus* con capacidad probiótica e inmunomoduladora. Tesis doctoral. Universidad Autónoma de Barcelona.
- Casula, G. y S. M. corte. (2002). Probióticos *Bacillus*: germinación de las esporas en el tracto gastrointestinal. *Appl. Environ. Microbiol.* Volumen 68 - p. 2344-2352.
- Duc le H, Hong HA, Barbosa TM, et al. (2004). Caracterización de los probióticos *Bacillus* disponibles para uso humano. *Appl Environ Microbiol.* Volumen 70. p. 2161-2171.
- Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí "Manuel Felix López" (ESPAM) (2008). Calceta, Manabí, Ecuador.
- Grupo de Investigación de Genética y Microbiología GENMIC (2009). (Genetics and Microbiology Research Group). <http://www.unavarra.es/genmic/index.htm>.
- Hennequin, C., et al. (2000). Possible role of catheters in *Saccharomyces boulardii* fungemia. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 19: 16-20.
- Kizerwetter-Swida, M. & Binek M. (2009). Protective effect of potentially probiotic *Lactobacillus* strain on infection with pathogenic bacteria in chickens. *Pol. J. Vet. Sci.* 12:15.
- Kobayashi, T., et al. (1995). Purificación y propiedades de una proteasa alcalina de *Bacillus sp* alcalofílico. *KSM-K16 - Appl Microbiol Biotechnol.* Volumen 43 - p. 473-481.
- M, Pérez., et al. (2012). Evaluation of a probiotic mixture on laying hens feeding in a commercial farm. Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí “Manuel Felix López” (ESPAM), Calceta, Manabí, Ecuador.
- Mackay, AD., Taylor, MB., Kibbler, CC., Hamilton-Miller, JMT. (1999). *Lactobacillus* endocarditis caused by a probiotic organism. *Clin Microbiol Infect*, 5: 290-292.
- Metchnikoff E. (1908). The prolongation of life. *Optimistic studies New York: Putman's Sons*; p. 161-83.

- Ministerio de la Agricultura, Unión Combinado Avícola Nacional, Instituto de Investigaciones Avícolas. (1998). *Instructivo técnico de ponedoras y sus reemplazos*. La Habana: Ministerio de la Agricultura.
- Mountzouris, K.C., et al. (2007). Evaluation of the efficacy of a probiotic containing *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Enterococcus*, and *Pediococcus* strains in promoting broiler performance and modulating cecal microflora composition and metabolic activities. *Poult. Sci.* 86 (2):309.
- Newbold C.J., Wallace R.J., Chen X.B., McIntosh F.M. (1995). Different strains of *Saccharomyces cerevisiae* differ in their effects on ruminal bacterial numbers in vitro and in sheep. *Journal of Animal Science*, 73, 1811–1818.
- Querol A., Barrio E., Huerta T., Ramón D. (1992). Molecular monitoring of wine fermentations conducted by active dry yeast strains. *Appl. Environm. Microbiol.* 58 (9): 2948-2953.
- Rinkinen, M., Westermarck, E., Salminen, S., & Ouwehand, A. C. (2003). Absence of host specificity for in vitro adhesion of probiotic lactic acid bacteria to intestinal mucus. *Veterinary Microbiology*, 97(1-2), 55–61. doi:10.1016/S0378-1135(03)00183-4.
- Romano P. (1992). Higher alcohol and acetic acid production by apiculate wine yeasts. *J. Appl. Bacteriol.* 73: 126-130.
- Schrezenmeir, J. & De Vrese, M. (2001). Probiotics, prebiotics and symbiotics –approaching and definition. *Am. J. Clin. Nutr.* 73: 361S.
- Stephen, T., et al. (2008). *Bacillus subtilis* spores germinate in the chicken gastrointestinal tract. *Appl Environ Microbiol.* 74 (16): 5254.
- UCAN-IIA. (1998). *Instructivo técnico de ponedoras y sus reemplazos*. Ministerio de la Agricultura. Unión Combinado Avícola Nacional. Instituto de Investigaciones Avícolas. La Habana, Cuba.