

01621
19



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

**EL USO DE UN CULTIVO DE LEVADURAS
Saccharomyces cerevisiae EN DIETAS PARA
GALLINAS DE POSTURA SOBRE EL
COMPORTAMIENTO PRODUCTIVO Y CALIDAD
DEL HUEVO**

T E S I S
PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA
P R E S E N T A :
JORGE EFRAIN CUELLAR MAGAÑA

**ASESORES: MC. ARTURO CORTES CUEVAS
MSc. ERNESTO AVILA GONZALEZ**



MEXICO, D. F.

2003

I



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

PAGINACIÓN DISCONTINUA

D E D I C A T O R I A S

A DIOS por todo lo que me a concedido en esta vida

Esta tesis representa la culminación de un objetivo, por lo que dedico este esfuerzo a mi familia:

A mi Esposa Patricia Díaz Correa
Por su amor, comprensión y paciencia.

A mis Hijos Claudia Itzel y Jorge Daniel
Por ser lo más hermoso que Dios me ha dado.

A mi Padre, Lucio Cuéllar Colín gracias a sus principios y esfuerzo, mis hermanos y yo hemos podido salir adelante.

Este es un reconocimiento y dedicatoria a Ana María Magaña Esparza, mi Madre ella se lleva el mayor crédito, puesto que gracias a su profesión natural de ser Madre supo darme las bases y principios para que llegáramos a cumplir nuestras metas.

A mis hermanos Gustavo, Arturo, Clementina, Graciela, Luz, Leticia, Jaime, Patricia, Laura y Verónica
Por su amistad y grandes consejos.

A todos mis sobrinos,
Por su alegría y respeto.

Gracias por todo lo que han hecho por mí.

A G R A D E C I M I E N T O S

Agradezco a la Universidad Nacional Autónoma de México y a la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, por haberme permitido realizar esta carrera.

Al Centro de Enseñanza, Investigación y Extensión en Producción Avícola de la U.N.A.M.

En especial al MC. Arturo Cortes Cuevas y al MSc. Ernesto Avila González, por su excelente asesoría y apoyo.

A DIAMOND V. Por haber proporcionado los medios para que se realizara este experimento.

A los Integrantes del Jurado

MVZ. Francisco Castrejón Pineda
MVZ. Sergio Angeles Campos
MVZ. Benjamín Fuente Martínez
MVZ. Tomas Jínez Mendez
MVZ. Arturo Cortés Cuevas

Autorizo a la Dirección General de Bibliotecas de la UNAM a difundir en formato electrónico e impreso el contenido de mi trabajo recepcional.
NOMBRE: Sergio E. Aguilar
MAGÁN
FECHA: 22/X/2003
FIRMA: [Firma]

A todos los profesores del C.E.I.E.P.A.

A todos los compañeros del Servicio Social.

A todos muchas gracias.

C O N T E N I D O**PAGINA**

RESUMEN.....	1
INTRODUCCIÓN.....	3
HIPOTESIS.....	18
OBJETIVOS.....	18
MATERIAL Y METODOS.....	19
RESULTADOS.....	22
DISCUSION.....	24
CONCLUSIONES.....	27
LITERATURA CITADA.....	28
CUADROS Y FIGURAS.....	33

RESUMEN

CUELLAR MAGAÑA JORGE EFRAIN. El uso de un cultivo de levaduras *Saccharomyces cerevisiae* en dietas para gallina de postura sobre el comportamiento productivo y calidad del huevo (Bajo la dirección de: MVZ MC. Arturo Cortés Cuevas, MVZ. MSc. Ernesto Avila González).

Con la finalidad de evaluar la adición en la dieta de un cultivo de levaduras (*Saccharomyces cerevisiae*, Sc), sobre el comportamiento productivo, calidad del huevo, producción de anticuerpos contra la enfermedad de Newcastle y mortalidad, se realizó un experimento con gallinas Hy Line W36 blancas. Se emplearon 240 gallinas de 23 semanas de edad. Las aves se alimentaron con una dieta a base de sorgo + pasta de soya con 2900 Kcal de EM/Kg, y 15% de proteína cruda de acuerdo a los requerimientos. Las gallinas se distribuyeron en cuatro tratamientos con 5 repeticiones de 12 gallinas cada una. En los tratamientos se empleó un diseño completamente al azar como se señala a continuación: 1.- Dieta testigo, 2.- Como 1+0.1% de cultivo de Sc, 3.- Como 1+0.2% de cultivo de Sc, 4.- Como 1+0.3% de cultivo de Sc en la dieta. Los datos en 45 semanas para porcentaje de postura (81.7 ± 1.68 , 80.3 ± 2.22 , 81.6 ± 2.67 y 80.6 ± 3.74 %), peso del huevo (60.4 ± 1.09 , 60.4 ± 0.41 , 61.1 ± 0.63 y 60.5 ± 1.28 g), conversión alimenticia (1.94 ± 0.02 , 1.97 ± 0.05 , 1.94 ± 0.05 y 1.96 ± 0.02 Kg), consumo / ave / día (96.6 ± 2.37 , 96.2 ± 3.05 , 97.2 ± 1.85 y 96.3 ± 2.40 g), masa del huevo / ave / día (49.7 ± 1.35 , 48.8 ± 1.45 , 50.3 ± 1.71 y 49.1 ± 1.47 g), y mortalidad (0.0 ± 0.00 , 0.3 ± 0.08 , 0.3 ± 0.08 y 0.0 ± 0.00 %), no mostraron diferencias ($P > 0.05$) entre tratamientos respectivamente. Lo mismo sucedió ($P > 0.05$) al evaluar las Unidades Haugh (95.6 ± 2.61 , 96.5 ± 2.57 , 96.8 ± 2.35 y

95.5±2.24) y color de yema con el abanico Roche (8.5±0.39, 8.7±0.30, 8.6±0.22 y 8.6±0.21). El grosor del cascarón del tratamiento 1 fue mayor ($P<0.05$), (0.367±0.011), los otros tratamientos fueron similares entre si (0.356±0.010, 0.347±0.010 y 0.352±0.11 mm). Los resultados de la prueba de Inhibición de la Hemoaglutinación (Hi) contra la enfermedad de Newcastle (ENC), fueron similares ($P>0.05$) entre tratamientos. La adición de cultivo de levaduras en dietas para gallinas de postura no tuvo un efecto benéfico sobre el comportamiento productivo, calidad del huevo y la producción de anticuerpos contra la ENC.

I N T R O D U C C I Ó N

A consecuencia de la prohibición de muchos antibióticos como aditivos promotores del crecimiento y de la producción de huevo, la comunidad europea tomó acciones que prohíben su uso en animales para consumo humano; de aquí, se desprende la búsqueda de alternativas en un futuro para México y América Latina en sustituir los antibióticos por productos del avance científico de la biotecnología como los probióticos y prebióticos entre los cuales se encuentran las levaduras *Saccharomyces cerevisiae* y cultivo de levaduras respectivamente. La Biotecnología, es el conjunto de métodos nuevos y tradicionales que involucran la aplicación de procesos biológicos y de organismos vivos o sus partes (tejidos y células o productos de éstas como las enzimas) a la producción de bienes y servicios en sectores tales como agricultura, producción pecuaria, industria farmacéutica, minería, especialidades químicas y recientemente control de la contaminación (1).

La biotecnología ha tenido un auge muy importante a partir de los últimos 10 años, siendo sus aplicaciones muy variadas en diversas áreas que incluyen la salud humana y animal. Podemos decir que no es una ciencia nueva, ya que ha sido utilizada durante miles de años, siendo sus primeras aplicaciones en el campo de la fermentación para producir vinos, cerveza, pan, y queso entre otros (2).

En el sector pecuario se utilizan productos derivados de la biotecnología, dando lugar al uso de organismos específicos especializados basados en aislamientos de microorganismos de la naturaleza y a la selección de cepas con determinadas características. A este grupo pertenecen los probióticos

son microorganismos propios de la flora digestiva que se administran para repoblar el sistema digestivo del animal, dentro de estos los más comunes son; *Lactobacillus acidophilus*, *Bacillus subtilis*, *Lactobacillus casei*, *Enterococcus* y sustancias que contribuyen al equilibrio microbiano intestinal. La palabra probiótico significa "para la vida" es decir promueven el crecimiento y desarrollo (1).

Los probióticos incluyen células, cultivos y metabolitos de microorganismos, siendo los más utilizados bacterias productoras de ácido láctico, levaduras y enzimas digestivas derivadas de éstas. Las primeras descripciones de las bondades derivadas de la utilización de los probióticos datan de principios del siglo xx con las investigaciones de Metchnikoff en 1907 sobre la longevidad de los habitantes de los países bulgaros, debido a los altos consumos de leche fermentada con microorganismos como *Lactobacillus acidophilus* (1,2).

El cultivo de levaduras *Saccharomyces cerevisiae* es un complemento alimenticio derivado de la fermentación de las levaduras de cervecera con granos y subproductos de granos. Existen diferencias fundamentales entre las levaduras vivas o viables y un verdadero "Cultivo Fermentado de Levaduras". La levadura seca activa (95% de materia seca) consta de células de levadura puras y deshidratadas, con conteos viables de 15 a 25,000 millones de células vivas de levaduras o unidades formadoras de colonias (UFC/g.) Las levaduras vivas no soportan altas temperaturas, a diferencia de un verdadero cultivo de levaduras que no tienen ningún problema en este sentido, ya que por su proceso especializado de fermentación controlada y dirigida soporta la presencia de oxígeno y el peletizado sin ningún problema.

Los cultivos de levaduras son productos fermentados complejos que se elaboran a partir de levadura viva, sin embargo, lo más importante son los subproductos generados durante el proceso fermentativo.

Los verdaderos cultivos fermentados de levaduras no son fuente de células vivas, sino un suplemento nutricional que estimula el crecimiento y reproducción bacteriana del tracto digestivo. Estos factores de fermentación denominados metabolitos nutricionales, no existen en la levadura viva, son termestables y no son afectados por temperaturas elevadas por lo que resisten la peletizadora.

Por lo tanto un cultivo de levaduras, con fermentación controlada y dirigida, obteniendo un sustrato que contiene nutrientes metabólicos (nutrilitos), paredes celulares (beta glucanos y mananos), estable al medio ambiente y temperatura tiene larga vida de anaquel y es un prebiótico.

Prebiótico: sustrato especial que alimenta directamente la microflora digestiva, del animal, fomentando su reproducción y crecimiento, potencializando y estabilizando su cinética. En el Cuadro 1 se muestra la producción de cultivo de levaduras(16).

Como aditivos para la alimentación animal se utilizan los cultivos de levaduras, es decir, que son productos secos (deshidratados) compuestos por las mismas levaduras y el medio en el cual han crecido. Es importante resaltar que el secado debe hacerse de tal forma que la levadura conserve su capacidad fermentativa(3).

Aditivos: los aditivos alimenticios incluyen un amplio número de compuestos que se agregan al alimento de las aves para mejorar la textura, la fabricación de pastillas ("pellets"), evitar la pérdida de nutrimentos, formación de compuestos

tóxicos, y un aspecto muy importante para mejorar el peso de las aves, la conversión alimenticia o la calidad de la canal.

EL APARATO DIGESTIVO DE LAS AVES Y CARACTERÍSTICAS DE LOS PROBIOTICOS.

La característica más importante de un tracto gastrointestinal es su adecuado funcionamiento y el balance de su flora presente. Un tracto saludable mantiene una flora mayoritaria de bacterias productoras de ácido láctico como los lactobacilos y estreptococos. Este equilibrio es alterado cada vez que las aves se enferman, se someten a un estrés o a un tratamiento con antibióticos (3).

En las aves, el mecanismo de colonización es regulado por el buche al nacimiento. Ecológicamente la flora que coloniza el buche es potencialmente importante. Por su situación anatómica en el tracto gastrointestinal está en una posición adecuada que influye en el ave, ya sea contribuyendo directamente en la nutrición o controlando la composición de la flora intestinal (4). Por ejemplo los lactobacilos que penetran por la vía oral se adhieren al epitelio del buche y colonizan su superficie. La habilidad de adherirse al epitelio es importante porque permite a un gran número de bacterias permanecer cuando el alimento abandona el buche. Las bacterias adheridas son capaces de colonizar el alimento recién ingerido. Estas bacterias, se trasladan junto con el alimento hacia el intestino e influyen en dicha comunidad microbiana. El resultado asegura el dominio de estas especies para la supresión de organismos enteropatógenos (4,5).

Los métodos modernos de la producción de pollo involucran la incubación de huevo limpio, en una incubadora libre de contaminantes y la transferencia del pollito a un lugar adecuado para su crianza. Esta admirable atención a la higiene significa que el pollo, que es separado de la madre y de su ambiente natural, es privado de su principal fuente para adquirir su flora intestinal. Consecuentemente el establecimiento de una flora nativa se retrasa, provocando que el pollito que entre en contacto con bacterias enteropatógenas genere una colonización de flora anormal que lo afecte adversamente (6,7).

Los factores que determinan la utilización de los probióticos en forma exitosa son la presencia de bacterias viables y en cantidades suficientes con alta capacidad de colonización del tracto gastrointestinal y con habilidad para desarrollarse en el medio ambiente intestinal, utilizando sustratos disponibles y resistiendo a agentes antibacterianos presentes en el medio (8,9).

Las características ideales de un probiótico son: (8,9)

- No ser patógeno para humanos y animales.
- Alta tolerancia a la bilis y acidez.
- Productores de ácido láctico.
- Fácil proliferación in vitro.
- Fácil proliferación in vivo.
- Alta tasa de sobrevivencia después del procesamiento (recuperación, liofilización).

MECANISMOS DE ACCION DE LOS PROBIOTICOS PROPUESTOS.

1.-EXCLUSION COMPETITIVA.

El establecimiento de microorganismos benéficos para controlar a los patógenos se conoce actualmente como manipulación de la población microbiana, y en microbiología se conoce con el nombre de exclusión competitiva. Guerrero (7) menciona que las primeras investigaciones sobre este fenómeno fueron realizadas por Gause en 1934, llegando a postular que dos especies con ecología similar no pueden convivir en el mismo sitio al mismo tiempo. Esto se conoció como el principio de Gause. Al correr de los años y con la incorporación de nuevos conceptos, se le ha denominado exclusión competitiva o simplemente principio de exclusión. Las características para que este principio se cumpla son las siguientes: (a) que dos poblaciones que no estén genéticamente cruzadas entre sí que hagan lo mismo es decir que ocupen precisamente el mismo nicho ecológico, (b) que ocupen el mismo territorio, y (c) si una población A se multiplicará más rápidamente que una población B, terminará la población A por desplazar a la población B (10,11,12,13).

El mecanismo de exclusión competitiva es muy importante para disminuir los riesgos de contaminación de Salmonella a nivel granja (9,10,11,12).

2.-PRODUCCION DE ACIDO LÁCTICO.

Además de la competencia por espacio algunas de las bacterias utilizadas como probióticos lactobacilos, estreptococos y bacilos producen ácido láctico que tiene efecto bactericida

que destruye a las bacteria gram positivas nocivas para el animal, además permite mantener niveles de pH suficientemente bajos para un ambiente intestinal saludable, tanto a nivel de regulación de la flora benéfica, como en la optimización de la actividad de las enzimas digestivas (2,11). Con la acidez, se inhibe el crecimiento de numerosas bacteria gram negativas, disminuyendo su potencial de óxido-reducción (7). Evidencias de estudios en pollos alimentados con altos niveles de penicilina en la dieta, muestran que al ser eliminados los lactobacillus el pH se eleva de 4.5 a 6 (5,6). Con la acidez, se inhibe el crecimiento de numerosas bacterias gram negativas, disminuyendo su potencial de óxido-reducción (7).

3.-ACTIVIDAD ANTIBIÓTICA DE LOS PROBIOTICOS.

Las bacterias productoras de ácido láctico son capaces de producir también una gama de sustancias antibacterianas que actúan en el intestino sobre patógenos como *Escherichia coli* (5). El *Lactobacillus acidophilus* produce ácidos orgánicos como acidofilin, lactocidin y acidolin. La diplococcina está entre los metabolitos producidos por los estreptococos. Adicionalmente, algunos lactobacilos producen suficiente cantidad de peróxido de hidrógeno que inhibe varios microorganismos. Los metabolitos antibióticos de los Lactobacilos han demostrado una actividad inhibitoria in vitro contra *Salmonella*, *Shigella*, *Staphylococcus*, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Vibrio* y *E. Coli enteropatogena* (12).

4.- ACTIVIDAD INHIBITORIA SOBRE TOXINAS.

Fuller y Brooker (6), reportaron en experimentos desarrollados *in vivo* e *in vitro* que los lactobacilos, además de prevenir la colonización por *E coli* producen sustancias en contra de la enterotoxina; observaron que en los buches de aves había un gran porcentaje de inhibición de la actividad enterotoxémica de *E coli*.

5.- INMUNOESTIMULACION.

La pared intestinal de animales libres de gérmenes es más delgada que la de animales comunes y la proporción de lamina propia es reducida. En ausencia de estímulo antigénico que provocan las bacterias, los folículos linfoides y las células plasmáticas libres en la mucosa se observan muy reducidas (15). Estudios realizados mostraron que en adición a las diferencias morfológicas en el intestino, también existen diferencias en la concentración de inmunoglobulina A en el suero y secreciones intestinales entre animales libres de gérmenes y convencionales, concluyendo que es una contundente evidencia de la relación directa entre la presencia en el lumen intestinal de una microflora viva y el desarrollo de células sintetizando inmunoglobulina A en la mucosa intestinal (15).

LEVADURAS Y SUS MECANISMOS DE ACCION.

Las levaduras, son hongos microscópicos unicelulares de forma oval, aún cuando existen casi 50,000 especies de hongos, sólo existen 60 géneros de levaduras. Pueden existir variedades

benéficas y patógenas, aunque la mayoría son saprófitos benignos. Se reproducen por bipartición por medio de gemación. Se pueden encontrar en los granos, ensilajes, henos, incluso en la tierra y agua. Pudiéndose encontrar desde unos cuantos miles (10^3) hasta más de un millón de células de levadura por gramo. A esto se denomina unidades formadoras de colonias (UFC) (16).

Las levaduras son anaeróbicas facultativas, lo que significa que pueden sobrevivir en ausencia de oxígeno, sin embargo, para su reproducción requieren de un proceso aeróbico mediante el cual la levadura convierte el oxígeno y los azúcares mediante un metabolismo oxidativo, en bióxido de carbono y energía libre, utilizable para el crecimiento celular, por lo cual requieren de oxígeno abundante para este proceso. Utilizadas desde siempre en la alimentación del hombre, contienen en su pared celular (también conocida como armadura de glucano) que consiste principalmente en betaglucanos y mananos, que son polisacáridos estructurales (cadenas de moléculas de azúcares) similares al almidón o a la celulosa, unidos entre sí con ligaduras diferentes (beta-1,3 y 1,6). Por lo tanto, se requieren diferentes enzimas para romperlas liberando así a las moléculas adsorbibles de azúcar. Los mananos son cadenas de un azúcar de molécula diferente a la glucosa que se conoce como manosa (16).

Se cree que las paredes celulares de levadura tienen una capacidad de adsorber o ligarse a ciertos elementos en el tracto digestivo, particularmente a sustancias y organismos nocivos como toxinas, antivitaminas, virus y bacterias patógenas y se presume que tienen un efecto protector al arrastrar estos agentes patógenos y salir del organismo a través del intestino (16).

Además de ser capaces de estimular el sistema inmunológico y la absorción de nutrientes, razón de interés en nutrición y biotecnología, se convierten en un aliado para la medicina. Por lo general la especie de levadura que se ha utilizado en los procesos de cultivo a gran escala con fines de alimentación humana o animal ha sido la cepa de *Saccharomyces cerevisiae* (Sc), microorganismo unicelular moderadamente grande, con forma oval que mide aproximadamente 5 por 10 micras. En el Cuadro 2, se señala su clasificación(16).

En la literatura, existe información sobre la composición química y estructura de la pared celular que envuelve a las levaduras y los datos disponibles conciernen principalmente a dos modelos de laboratorio, el Sc (18), de hecho, ha sido el primer hongo por el cual la estructura de la pared celular ha sido descrita a nivel molecular y *Candida albicans* (19), principal agente oportunista implicado en las infecciones orales de origen fungal (20).

Como aditivos para la alimentación animal se utilizan levaduras vivas y cultivo de levaduras; este último es un producto seco (deshidratado) derivado de la fermentación compuesto por las mismas levaduras muertas y el sustrato en el cual se han desarrollado. Es importante resaltar que el secado debe hacerse de tal forma que conserve sus nutrientes (16,20).

MODO DE ACCIÓN EN MONOGASTRICOS

Las levaduras no pertenecen a la flora microbiana existente de los animales, no se adhieren al epitelio intestinal y transitan bajo su forma viable a través del tracto digestivo

(17). Existen algunas hipótesis de la acción de las levaduras vivas en el tracto digestivo de monogástricos como son:

1) Propiedades inmuno-estimulantes

Durante los últimos 30 años, un número de estudios científicos han documentado que el beta 1,3 y 1,6 glucan de la levadura de panadería, es un material no tóxico el cual acentúa la protección contra infecciones por virus, bacterias hongos y parásitos incrementando las células blancas del organismo que ayudan a combatirlos (21), demostrando también tener acción citolítica, destruyendo las células tumorales (22,23). Por ello, los Beta-glucanos, obtenidos a partir de las paredes (Sc), son ahora reconocidos como inmuno-estimulantes porque no sólo activan a los macrófagos, sino también a los neutrofilos y los linfocitos T y B (22,23).

Sin embargo, las células intactas de la levadura no activan el sistema inmunológico, porque el activador biológico beta 1,3 y 1,6 glucano está adjunto de las paredes celulares y cubierto por componentes (mananoproteínas), los cuales no son removidos por el proceso normal de la digestión en el intestino. Por lo tanto, para procurar un producto biológicamente activo, estos componentes de la superficie tienen que ser removidos, lo cual también libera y expone a los Beta-glucanos en su forma activa (21).

2) Efectos anti-infecciosos

Las levaduras fueron propuestas en un principio como preventivos o agentes curativo de tratamientos post-

antibióticos seguidos de enfermedades digestivas. Se observó clínicamente y en condiciones experimentales que la levadura viva tenía un efecto adverso contra bacterias en la enterotoxemia producida por *Escherichia coli*, *Clostridium difficile* y *Candida albicans* (24,31).

La clave para sobrevivir de algunas cepas de bacteria patógenas en el intestino es el potencial que tengan para colonizar rápidamente la mucosa intestinal, esto lo logran mediante su habilidad para adherirse a receptores específicos de glicoproteínas localizados en la mucosa epitelial (17). La adhesión permite al organismo patógeno aumentar el dominio sobre su medio ambiente inmediato, aprovechándose del flujo normal de la ingesta. La acción por la cual las levaduras vivas ejercen un control de E.coli en el tracto intestinal, es mediante tres posibles acciones de contrarrestar el efecto de la patogenicidad (24);

1) Fijación de E coli en la superficie de la pared celular de la levadura, si la E coli posee cilios.

2) Fijación de la enterotoxina en la superficie de la pared celular de la levadura.

3) Destrucción de E coli por toxina letal de la levadura, estas toxinas son representadas químicamente por glicoproteínas, las cuales pueden ser halladas no solamente en la pared celular de la levadura, sino también dentro de la célula.

Por otro lado, Lahnborg et al. (25), indican que partículas de Beta-(1,3)-D glucanos de Sc, asociados a tratamientos con

antibióticos, mejoran la defensa del organismo contra las infecciones bacterianas, estimulando el sistema retículo endotelico del tubo digestivo. Ya que, estos glucanos solos no pueden tratar la infección, pero complementados al antibiótico, ejercen una acción sinérgica (23,25).

3) Actividad enzimática.

Las levaduras de *Saccharomyces cerevisiae* contienen numerosas enzimas que pueden ser liberadas en el intestino y complementarse con las enzimas digestivas ya existentes, facilitando la digestión; otras permanecen dentro de la célula y solo son liberadas después de la lisis de la levadura (15). Las enzimas incluyen proteasas y peptidasas, algunas que atacan lípidos, y muchas que intervienen en el metabolismo de los glucidos: invertasa, hidrolasa, maltasa, fosfatasa y galactosidasa (21,25).

4) Reducción de la tasa de oxígeno en el tracto digestivo.

El oxígeno perjudica el funcionamiento de la flora microbiana digestiva, conformada principalmente por gérmenes anaerobios estrictos. Se ha demostrado que la adición de las paredes celulares de *Saccharomyces cerevisiae*, debido a su actividad respiratoria contribuyen a reducir en gran medida el contenido de oxígeno en el rumen de los bovinos y que es muy probable que esta propiedad sea observada en el tubo digestivo de las especies monogástricas (17). El resultado es una mejora de la anaerobiosis y, por tanto, de la calidad del entorno de la flora digestiva del animal. Esto se traduce en una optimización de la flora y, por consiguiente, un mejor aprovechamiento del alimento.

5) Producción de ácidos grasos volátiles (agv).

Algunas investigaciones realizadas *in vitro* e *in vivo* (26), han demostrado que el aporte de paredes de *Sc*, está relacionado con un aumento significativo de la producción de ácidos grasos volátiles, del 9 al 33%, lo que debe repercutir a nivel del metabolismo energético del animal huésped.

Otros efectos.

Diferentes investigadores observaron que las levaduras vivas incrementan el número de bacterias celulolíticas en el rumen y estimulan la producción de algunas fermentaciones y productos (27,28,29), explicado por la incorporación de más carbohidratos estructurales con una baja digestibilidad en sus dietas experimentales en rumiantes (31).

Reynaldo (2), cita que recientemente, ha habido un interés creciente en el papel que juegan algunos carbohidratos complejos en la prevención y tratamiento de enfermedades. Por muchos años se asumía que los azúcares únicamente funcionaban como fuente de energía por lo aparentemente simple de su estructura. En los últimos 15 años se ha acumulado considerable evidencia que muestra que algunos componentes en la superficie de las bacterias llamados lectinas, están involucradas en la adherencia a epitelios. Aunque hay un número de lectinas que son específicas para adherirse a azúcares como galactosa y glucosa, las lectinas con especificidad a manosa predominan en los patógenos intestinales. Estas lectinas se localizan en la parte exterior de la célula y está asociada con el pili o fimbria de la bacteria, la cual se adhiere a células que contienen

manosa. Los manano-oligosacáridos proveen una fuente rica en mananos que adsorben a las bacterias patógenas, previniendo que colonicen el tracto digestivo. Debido a que estos azúcares no son degradados por las enzimas propias del ave, pasan a través del tracto digestivo con los patógenos adheridos para ser finalmente expulsados al exterior con las excretas (7).

H I P O T E S I S .

La inclusión de un cultivo de levadura *Saccharomyces cerevisiae*, en dietas para gallinas de postura, no mejora el comportamiento productivo, la calidad interna y externa del huevo; así como, tampoco influye en la producción de anticuerpos contra la enfermedad de Newcastle.

O B J E T I V O S .

a) Evaluar el efecto de la adición de cultivo de levaduras *Sc*, en dietas para gallinas de postura sobre el comportamiento productivo: % de postura, peso del huevo, masa del huevo, conversión alimenticia, consumo/ave/día y % de mortalidad.

b) Evaluar el efecto de la adición de cultivo de levaduras *Sc* sobre la calidad interna y externa del huevo: Unidades Haugh, color de yema y grosor del cascarón.

M A T E R I A L Y M E T O D O S .

El presente trabajo se llevó a cabo en el Centro de Enseñanza, Investigación y Extensión en producción Avícola de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México, localizado en Zapotitlán, Tláhuac, Distrito Federal, a una altitud de 2,250 m.s.n.m, entre los paralelos 19° 17' latitud norte y los meridianos 99° 02'30" longitud oeste, con clima templado húmedo, y bajo grado de humedad (C(WO)(W)). Enero es el mes más frío y mayo el mes más caluroso, la temperatura media anual 16°C y la precipitación pluvial anual de 747 mm(INEGI, 1992) (32).

El experimento se realizó en una caseta convencional, que cuenta con jaulas en pirámide de dos pisos, donde se alojaron 240 gallinas de 23 semanas de edad de la extirpe Hy Line W 36, en jaulas con grupos de tres gallinas cada una. En el experimento se empleó un diseño completamente al azar, de 4 tratamientos con 5 repeticiones de 12 gallinas cada una, con un total de 60 gallinas por tratamiento. Los tratamientos fueron los siguientes:

- 1.- Dieta testigo
- 2.- Como 1+0.1% de cultivo de levaduras DIAMOND V.
- 3.- Como 1+0.2% de cultivo de levaduras DIAMOND V.
- 4.- Como 1+0.3% de cultivo de levaduras DIAMOND V.

La dieta testigo la cual se presenta en el Cuadro 3, se adicionó con bacitracina zinc como promotor del crecimiento y se elaboró a base de sorgo + pasta de soya con 2900 kcal/kg de Energía Metabolizable (EM) y 15 % de proteína cruda (PC) de acuerdo con los requerimientos señalados por Cuca et al(31). El análisis calculado aparece en el Cuadro 4, y en el Cuadro 5, se presenta la premezcla mineral que se utilizó en la dieta para gallinas. Se adicionaron las cantidades antes mencionadas del cultivo de levaduras a expensas del sorgo de la dieta testigo. Las aves en todo momento recibieron alimentación y el consumo de agua a libre acceso. El fotoperiodo de la parvada experimental fue de 16.5 horas diarias, se llevaron registros diariamente de la temperatura y la humedad dentro de la caseta y a la altura de las jaulas Cuadro 6. Los datos obtenidos del porcentaje de postura, peso del huevo, consumo de alimento, conversión alimenticia, masa del huevo y porcentaje de mortalidad durante 45 semanas de duración del experimento, se resumieron semanalmente, así mismo, se midió cada 5 semanas el grosor del cascarón, las Unidades Haugh (Unidad de medida para evaluar la calidad de la albúmina) y el color de la yema con el abanico colorimétrico Roche 1989, a 3 huevos por réplica de cada tratamiento. Al iniciar el experimento se tomaron 3 muestras de sangre por réplica, con un total de 15 muestras por tratamiento, a los cuales se les midió en el laboratorio los niveles basales de anticuerpos contra la enfermedad de Newcastle (ENC), mediante la prueba de inhibición de la hemoaglutinación (HI), mediante diluciones dobles seriadas. Se vacunaron las gallinas cada 7 semanas contra la (ENC), con la cepa La Sota por vía ocular. Posteriormente a los 21 días después de cada vacunación (durante 3 ocasiones), se tomaron 15 muestras de sangre por tratamiento para la obtención de

suero, y se midió la cantidad de anticuerpos contra la (ENC). Cabe señalar que las gallinas muestreadas al inicio de la investigación, fueron las mismas gallinas utilizadas hasta el final del experimento, por lo que fueron previamente marcadas con pintura de aceite en las plumas del ala para su identificación. Los resultados obtenidos de los sueros evaluados en el laboratorio mediante la prueba de HI se transformaron mediante logaritmos base 2, posterior a la transformación de los datos, estos y los datos obtenidos en parámetros productivos y calidad interna y externa del huevo se sometieron a un análisis de varianza conforme al diseño experimental empleado. El modelo estadístico al cual se le atribuyó el total de variación en el experimento fue.

$$Y_{ij} = \mu + T_i + E_{ij}$$

Y_{ij} Es la variable respuesta en la j -ésimo observación del i -ésimo tratamiento.

μ Es la media general.

T_i Es el efecto del tratamiento que va de $i=1, 2, 3$ y 4 .

E_{ij} Error experimental de la j -ésimo observación en el i -ésimo tratamiento.

R E S U L T A D O S

Los datos obtenidos durante 336 días de registro de la temperatura y la humedad para mínimas y máximas dentro de la caseta y a la altura de las jaulas se encuentran en el Cuadro 6. Se puede apreciar que la temperatura más baja fue en Enero de 10°C y la más alta en Abril con 33°C con un promedio de mínimas y máximas de 14°C y 29°C para todo el experimento. En cuanto a la humedad dentro de la caseta la mínima durante todo el experimento fue de 19% en el mes de Abril y la máxima en Julio de 78%, con un promedio en los 336 días de experimentación de 25% como mínima y 66% como la máxima del porcentaje de humedad.

Los resultados promedio obtenidos en 336 días de experimentación para porcentaje de postura, peso del huevo, conversión alimenticia, consumo de alimento por ave por día, masa del huevo y porcentaje de mortalidad se muestran en el Cuadro 7. Se puede ver que no existió diferencia significativa estadísticamente ($P > 0.05$) entre tratamientos en el comportamiento productivo con la adición de un cultivo de levaduras Sc. en la dieta.

En la Figura 1, se muestra el comportamiento cada 30 días del porcentaje de postura de las gallinas alimentadas con distintos niveles de cultivo de levaduras, se puede observar la similitud de la producción con los diferentes tratamientos, la Figura 2, muestra el peso del huevo de gallinas alimentadas con cultivo de levaduras Sc. En la Figura 3, aparece la conversión alimenticia de gallinas alimentadas con un cultivo de levaduras Sc. Finalmente en la Figura 4, se ve el consumo de alimento por ave por día con cultivo de levaduras Sc.

En el Cuadro 8, se muestran los datos promedio obtenidos para Unidades Haugh, color de la yema y grosor del cascarón, se puede observar que no existió efecto ($P > 0.05$) a la adición de cultivo de levaduras Sc. Sin embargo en la variable grosor del cascarón fue mayor ($P < 0.05$) el tratamiento 1, sin cultivo de levaduras Sc, con respecto a los tratamientos 2, 3, y 4, los cuales fueron similares entre sí.

Los datos promedio obtenidos en cuanto a la producción de anticuerpos contra ENC antes de la vacunación y después de la primera, segunda y tercera vacunación se encuentran en el Cuadro 9, se puede notar también que no existió diferencia estadística significativa ($P > 0.05$) entre tratamientos, es decir no hubo efecto a la adición de cultivo de levaduras Sc en la dieta.

D I S C U S I O N .

El uso de un cultivo de levaduras *Sc* en dietas para gallinas de postura durante 336 días no tuvo efecto favorable sobre el porcentaje de postura, peso del huevo, conversión alimenticia, consumo/ave/día, masa del huevo y mortalidad. Tampoco existió efecto sobre los parámetros Unidades Haugh, y color de la yema. Lo anterior puede deberse a que la dieta ya incluía promotor del crecimiento y por lo tanto el antibiótico empleado mantuvo salud intestinal durante todo el estudio. Por otra parte también los nutrientes asociados al cultivo empleado no tuvieron beneficio, quizás por ser la dieta adecuada en nutrientes (31).

Sin embargo, la literatura señala que el cultivo de levaduras al ser digeridas pueden liberar enzimas (proteasas, peptidasas, invertasas, hidrolasas, mantasas, fosfatasas y galactosidasas), las cuáles facilitan la digestión en sinergia con las producidas por el propio intestino (21,25). Por otro lado, se asume que en monogástricos las paredes celulares de las levaduras de *Sc* debido a su actividad respiratoria contribuyen a reducir el contenido de oxígeno en el tracto digestivo, lo cual se traduce en una flora intestinal más equilibrada, puesto que la presencia de oxígeno perjudica el buen funcionamiento de la flora microbiana. Lo anterior permite una mayor digestión y absorción de nutrimentos, lo que repercute en un mejor comportamiento productivo en el animal (17).

En cuanto a la mortalidad se refiere, en el presente estudio se registró una baja mortalidad (1.5%) ya que se acepta hasta un 6% lo cual pudo deberse a la acción sinérgica del antibiótico con el cultivo de levaduras de *Sc*, puesto que los betagluconos contenidos en las paredes celulares de *Sc*, en

asociación con los antibióticos, mejoran la inmunidad del tracto digestivo al estimular el sistema reticulo endotelial del tubo digestivo (21,25).

Con respecto a la titulación de anticuerpos con la prueba de Hi contra la ENC, tampoco se encontraron niveles mayores que el tratamiento 1. Probablemente se debió a que la dieta contenía bacitracina zinc como promotor del crecimiento, el cual pudo bloquear el efecto inmunoestimulante de las levaduras o por que las bondades de las levaduras se encuentran en mayor parte en los compuestos de las paredes celulares y podría ser mejor solo proporcionar a las aves estas en lugar de las levaduras completas (30).

En el presente trabajo se investigó si había una mayor producción de anticuerpos contra la ENC, en los tratamientos con *Sc*, ya que algunos autores señalan que las paredes celulares de *Sc*, activan a los macrofagos, neutrófilos, linfocitos T y linfocitos B, estos últimos ya activados se dividen y determinan en células plasmáticas que segregan unas proteínas, los anticuerpos, que son formas solubles de sus receptores. Al unirse a los antígenos que encuentran, los anticuerpos pueden neutralizarlos o precipitar su destrucción por las enzimas del complemento o por las células carroñeras (22,33).

Para el grosor del cascarón el tratamiento uno fue mayor, aunque los valores de todos los tratamientos se encuentran en un rango aceptable adecuado que va de los 0.330 a 0.360 mm.

Para corroborar el efecto de la adición de cultivo de levaduras de *Sc*, se sugiere realizar estudios en gallinas de postura sin la adición de antibiótico promotor del crecimiento, para evaluar los parámetros productivos y la respuesta inmune; puesto que existen pocos estudios al respecto lo cual contribuirá a incrementar el número de

investigaciones en relación al estudio del cultivo de levaduras de Sc, en la alimentación de gallinas ponedoras.

CONCLUSIONES.

Con base en los resultados obtenidos bajo las condiciones de este, estudio se concluye que, el uso de un cultivo de levaduras *Saccharomyces cerevisae* (0,1,2 y 3 kg / ton) en dietas para gallinas de postura por 336 días, no mejora el comportamiento productivo, la calidad del huevo, así como la producción de anticuerpos contra la enfermedad de Newcastle.

RECOMENDACIONES.

En estudios futuros se sugiere que no se emplee la bacitracina zinc como promotor del crecimiento, para poder evaluar solo el efecto del cultivo de levaduras en gallinas alimentadas con cultivo de levaduras Sc.

L I T E R A T U R A C I T A D A

1. Hoyos G. Aplicación de la biotecnología en la producción animal. Memorias del 1er. Simposio Mexicano sobre probióticos, 1997 junio 18-20: Ciudad Universitaria, México (D.F.) 131-138
2. Hoyos G. Cruz C. Mecanismos de acción propuestos de los probióticos en cerdos. Biotecnología en la industria de alimentación animal 1990;1:73-80
3. Lyons T P. Probiotics an alternative to antibiotics pigs. News Info 1987;8:157-164
4. Fuller R. Turvey A. Bacteria associated with the intestinal wall of the fowl (*Gallus domesticus*). Journal of Applied Bacteriology 1996;34:617-622
5. Fuller R. Basis and efficacy of probiotics. World's Poultry Science Journal 1988;1:69-71
6. Fuller R. Brooker B E. Lactobacilli which attach to the crop epithelium of the fowl. The American Journal of Clinical nutrition 1974;27:1305-1312
7. Guerrero R. Biotecnología Aplicada en la Avicultura. Asociación Nacional de especialistas en Ciencias Avícolas; 1997 marzo 12-14: Ciudad Universitaria, México (D.F.) 31-38
8. Bradley G L, Savage T F, Karen I. The effects of supplementing diets with *Saccharomyces cerevisiae* var.

Boulardii male pout performance and ileal morphology.
Poultry Science 1994;73:1766-1770

9. Lyons T P. The scientific basis for the fermentation product yeast culture milling flour and feed. Biotechnology in The Feed Industry Proceeding of Alltech's Ninth Annual Symposium ed by T.R Lyons 1989;2:37-40
10. Hardin G. The competitive exclusion principle. Science 1960;131:195
11. Blankenship L C, Cox NA, Bailey J S, Stern N J, Meinersmann R, Craven S E, Mchan F. Competitive exclusion could control salmonella in poultry. Feedstuffs 1990;9:93-97
12. Cheeke R P. Applied animal nutrition. Feeds and feding 2nd ed: New Jersey, USA: Prentice Hall, inc, 1999
13. Fox S M. Probiotics intestinal inoculants for production animals. Veterinary medicine august 1988;28:53-62
14. Leeson S, Summers J D. Nutrition of the chicken 4th ed. Guelph, Ontario Canada. University Books, 2000
15. March B E. The host and its microflora: an ecological unit. Journal of animal science 1979;49:39-42
16. Morales L. ¿Qué es un verdadero Cultivo Fermentado de Levaduras. Nutriciero 2003 agosto :28-33

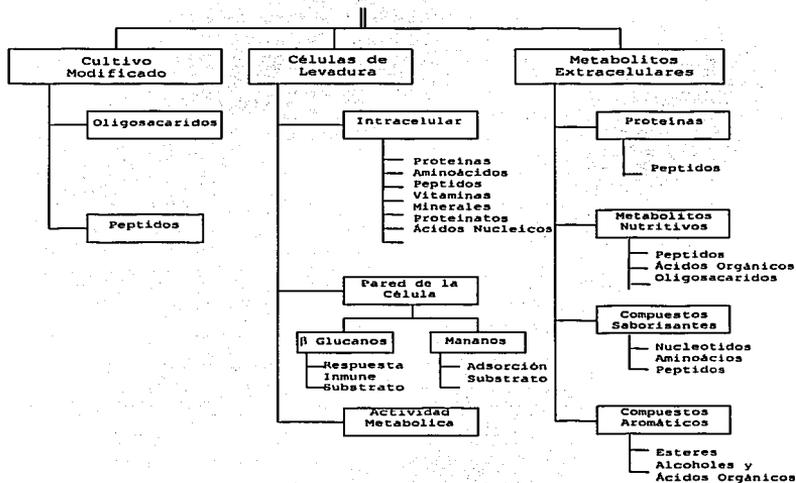
17. Manual Técnico. Procreatin 7 y Biosaf. Safmex. División Agropecuaria 1995;47
18. Fleet G H, Rose A H, Harrison J S. The yeasts. Ac press, London 1991;4:199-277
19. Shepard M G. Cell envelope of *Candida albicans*, Crit Rev. Microbiol 1987;15:7-25
20. Soares R M A, Soares R M, Alviano D S, Angluster J, Alviano C S, Travassos L R. Identification of sialic acids on the cell surface of *C. Albicans*. Biochem BIOPHYS Acta 2000;1474:262-268
21. Blondeau K. La paroi des levures. Structure et fonctions potentiels therapeutiques et technologiques. Université Paris Sud.2001
22. Bogwald E J, Seljelid R. The cytotoxic effect of mouse macrophages stimulated in vitro by a B-1,3 D-glucan from yeast cell walls. Scand J Immunol 1982;15:297-304
23. Bohn J A, Bemiller J N. 1,3 B-D-glucans as biological response modifiers. A review of structure functional activity relationships. Carbohydrate polymers 1995;28:3-14
24. Ducluzeau R T, Bensaada M. Effet comparé de l'administration unique ou en continu de *Saccharomyces boulardii* sur l'établissement de diverses souches de *Candida* dans le tractus digestif de souris gnotoxéniques. Ann Microbio. Inst. Pasteur 1982;133:491-501

25. Lahnborg G, Hedstrom K G, Nord C E. The effect of glucan-a host resistance activator and ampicillin on experimental intrabdominal sepsis. Journal of the Reticuloendothelial Society 1982;32:347-357
26. Aerts J L, Dussert L. Effect of living yeast (Biosaf Sc 47) on zootechnical performances and carcass composition of finishing bulls. Proceedings in Villeme Journees des Recherches sur Alimentation et la Nutrition des Herbivores INA-PG Paris 1991;24-25
27. Wiedmeier R D, Arambel M J, Walters J L. Effect of yeast culture and aspergillus oryzae fermentation extract on ruminal characteristics and butriend digestibility. J Dairy Sci. 1987;70:2063-2068
28. Fiems L O, Dussert L, Boucque Ch V. A note on the effect of living yeast on the growth rate of grazing young bulls. Revue del agriculture 1992;45:72-76
29. Edwards I E T, Mutsvangwa T, Topps G H, Oaterson G F M. The effect of supplemental yeast culture on patterns of rumen fermentation and growt performance of intensively. Fed bulls. Anim. Prod 1990;50:579
30. Onifade A A, Odunsi A A, Babatunde G M, Olorede B R, Muma E. Comparison of the supplemental effects of *Saccharomyces cerevisiae* and antibiotics in low-protein and high-fibre diets fed to broiler chickens. Arch Tierernahr 1999;1:29-39

31. Cuca G M, Avila G E, Pro M A. Alimentación de las Aves. 8va ed. Chapingo Edo. De México: Universidad Autónoma Chapingo 1996:80-88
32. INEGI. Tlahuac: Cuaderno de información básica delegacional. INEGI, México 1992
33. Tellez I G, Ceniceros R M. Inmunología Veterinaria. Memorias del 2° Curso de Inmunología Veterinaria, Convocado por el Departamento de Producción Agrícola y Animal de la Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco; 2000 Octubre 9-11; México (D.F.). 2000:2-10

Cuadro 1. Producción de Cultivo de Levaduras

Cultivos de Levaduras



CUADRO 2. CLASIFICACIÓN DE *Saccharomyces cerevisiae* (16).

Reino	Hongo
División	Eumycota
Subdivisión	Ascomycetina o Ascosporogenes
Clase	Hemiascomyces
Orden	Saccharomycetales o Saccharomycetaceae
Sub-Familia	Saccharomycoides o Saccharomycetoideae
Genero	Saccharomyces
Especie	<i>cerevisiae</i>

CUADRO 3. COMPOSICIÓN DE LA DIETA TESTIGO PARA GALLINAS DE POSTURA.

INGREDIENTES	Kg/ Ton.
SORGO (9%)	675.817
PASTA DE SOYA (48)	190.016
CARBONATO DE CALCIO	89.207
ACEITE VEGETAL	24.349
FOSFATO DE CALCIO	12.345
SAL	3.882
DL- METIONINA	1.533
PIGMENTO	1.500
CLORURO DE COLINA (60%)	0.500
PREMEZCLA DE MINERALES	0.500
PREMEZCLA DE VITAMINAS	0.250
BACITRACINA ZINC	0.100
Total	1000 KG

CUADRO 4. ANALISIS CALCULADO DE NUTRIENTES

PROTEÍNA CRUDA %	15.00
METIONINA %	0.402
METIONINA + CISTINA%	0.640
E.M. AVES Kcal/Kg	2,900
CALCIO TOTAL%	3.750
FOSFORO DISPONIBLE%	0.35

CUADRO 5. CONTENIDO DE LA PREMEZCLA MINERAL

MINERAL	CANTIDAD
HIERRO	110g
ZINC	50g
MANGANESO	110g
COBRE	12g
SELENIO	0.1g
iodo	0.3g
COBALTO	0.2g
EXCIPIENTE c.b.p.	1000g CaCO ₃

CUADRO 8. DATOS OBTENIDOS DE CALIDAD DEL HUEVO EN GALLINAS ALIMENTADAS CON CULTIVO DE LEVADURAS Sc

CULTIVO DE LEVADURAS Sc	UNIDADES HAUGH	COLOR DE YEMA	GROSOR DEL CASCARON mm
0.0%	95.6a	8.5a	0.367b
0.1%	96.5a	8.7a	0.356a
0.2%	96.8a	8.6a	0.347a
0.3%	95.5a	8.6a	0.352a

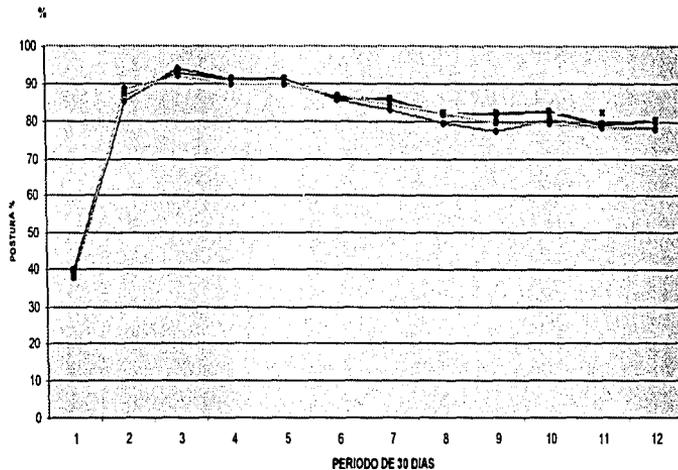
a,b Valores con distintas literales en columna son diferentes estadísticamente ($p < 0.05$)

CUADRO 9. RESPUESTA DE LA PRODUCCION DE ANTICUERPOS* DE GALLINAS ALIMENTADAS CON CULTIVO DE LEVADURAS Sc

	0.0% CULTIVO DE LEVADURAS	0.1% CULTIVO DE LEVADURAS	0.2% CULTIVO DE LEVADURAS	0.3% CULTIVO DE LEVADURAS
ANTES	9.336	8.176	8.896	8.354
1*. MUESTRA	9.956	10.146	9.634	10.360
2*. MUESTRA	10.166	10.118	9.958	9.722
3*. MUESTRA	10.566	10.096	10.224	10.166

NS= Sin diferencia significativa ($P > 0.05$)

*Los datos son la media geométrica del logaritmo base 2 de anticuerpos cuantificados mediante la prueba de Hi.



—●— T1- Dieta testigo

—●— T2- Como 1+0.1% de cultivo de levaduras*

—■— T3- Como 1+0.2% de cultivo de levaduras

—●— T4- Como 1+0.3% de cultivo de levaduras

FIGURA 1 PORCENTAJE DE POSTURA DE GALLINAS ALIMENTADAS CON CULTIVO DE LEVADURAS S_c DURANTE 336 DIAS.

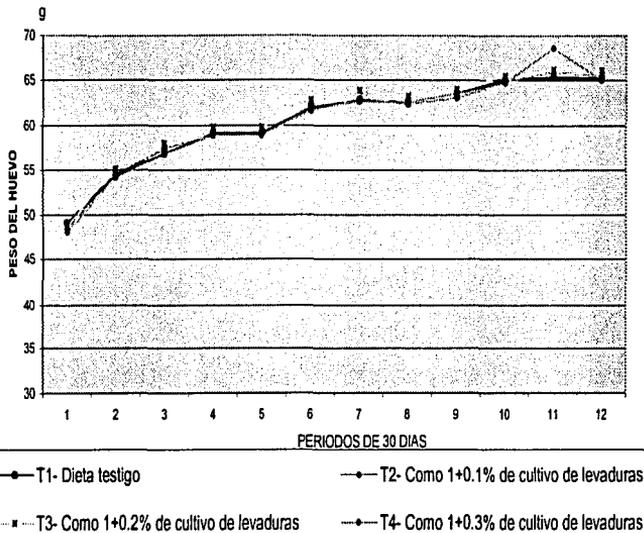


FIGURA 2 PESO DEL HUEVO DE GALLINAS ALIMENTADAS CON CULTIVO DE LEVADURAS S_c DURANTE 336 DIAS

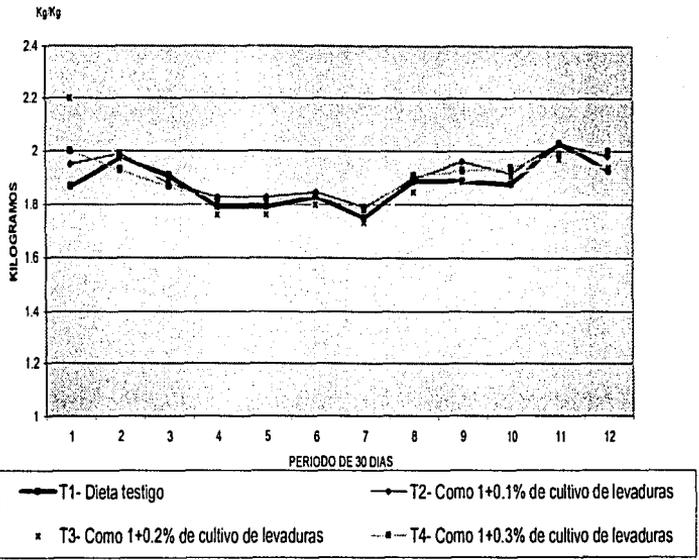
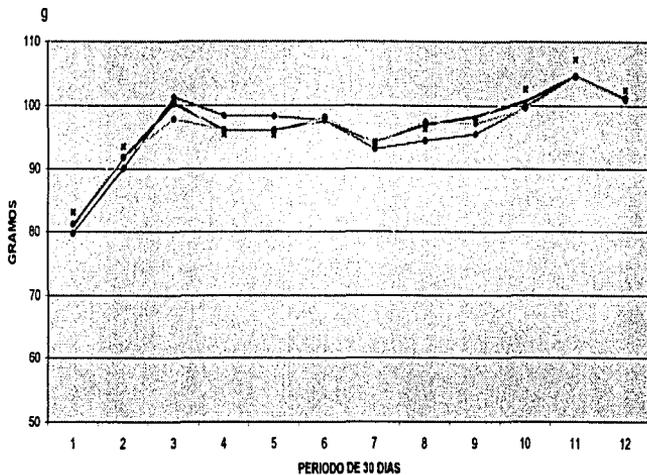


FIGURA 3 CONVERSION ALIMENTICIA DE GALLINAS ALIMENTADAS CON CULTIVO DE LEVADURAS S_c DURANTE 336 DIAS

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



— T1- Dieta testigo
 — T2- Como 1+0.1% de cultivo de levaduras
 — T3- Como 1+0.2% de cultivo de levaduras
 — T4- Como 1+0.3% de cultivo de levaduras

FIGURA 4 CONSUMO DE ALIMENTO POR AVE POR DÍA CON CULTIVO DE LEVADURAS Sc DURANTE 336 DIAS