



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO

MAESTRIA EN CIENCIAS DE LA
PRODUCCIÓN Y DE LA SALUD ANIMAL

EFFECTO DE LA ADICIÓN DE DOS PROBIÓTICOS Y SU COMBINACIÓN
EN LA DIETA DE CERDAS EN LACTACIÓN SOBRE LA PRODUCTIVIDAD DE
LA CERDA Y SU CAMADA

T E S I S

PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRO EN
CIENCIAS

P R E S E N T A

ALEJANDRO CASTELLANOS ACEVES

TUTOR:

CÉSAR AUGUSTO MEJÍA GUADARRAMA

COMITÉ TUTORAL:

GERARDO MARISCAL LANDÍN
GERMÁN BORBOLLA SOSA



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.

DEDICATORIAS

A mis padres; Rodolfo Castellanos Luevanos y María Martha Aceves Anguiano, por que con amor, respeto, dedicación, apoyo incondicional y ejemplo, formaron una familia unida, cariñosa y responsable.

A mis hermanos; Martha, Verónica, María del Rocío, Bernardino, Gil Conrado, Ana Lucia, Delia Francisca, Rodolfo y mi cuata Alejandra Elizabeth, por el amor y apoyo que siempre me han brindado, todos han formado parte de mi inspiración para lograr las metas del día a día.

AGRADECIMIENTOS

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN

**INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACIÓN FORESTALES AGRÍCOLAS Y
PECUARIAS**

**CENTRO NACIONAL DE INVESTIGACIÓN DISCIPLINARIA EN FISIOLOGÍA Y
MEJORAMIENTO ANIMAL**

CONSEJO NACIONAL DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA

A MI COMITÉ TUTORAL

A los doctores; Gerardo Mariscal Landín, Tércia Cesária Reis de Souza, José Antonio Cuarón I., Ricardo Basurto Gutiérrez, Ofelia Mora Izaguirre, Armando Shimada M., Teresa Peña Rangél, Sergio Gómez Rosales, Susana Mendoza Elvira, QFB. Ericka Ramírez, y especialmente a los doctores José Antonio Rentería Flores y César Augusto Mejía Guadarrama, por el que compromiso, paciencia y dedicación empleado en mi formación.

A mis compañeros y amigos; Gerardo, Laura M., Iván, Cynthia, Konigsmar, Laura, Julio, Juana, Edgar, Mario, Denisse, Mario A., Vicente, Daniel, Gregorio, Mónica, Yhumi, Luis Javier, Patricia y Magdalena, por el apoyo y amistad que me brindaron durante este tiempo.

RESUMEN

El objetivo de nuestro trabajo fue evaluar el efecto de la adición de *Saccharomyces cerevisiae*, o la mezcla de *Bacillus Licheniformis* y *B. subtilis*, así como de la combinación de los anteriores, en la dieta de cerdas en lactación sobre la productividad de la cerda y los lechones durante el periodo de lactancia y destete. Fase 1: Se utilizaron 160 cerdas (202.9 ± 23 kg) y sus camadas, se usaron 4 dietas; una dieta control, formulada para satisfacer las necesidades de la cerda en lactación, las tres restantes, son la misma dieta control mas la adición de *Saccharomyces cerevisiae*, *Bacillus Licheniformis*-*B. subtilis* y la combinación de *Saccharomyces cerevisiae* y *Bacillus Licheniformis*-*B. subtilis*, respectivamente. Fase 2: Se utilizaron 381 lechones (8.8 ± 0.5 kg) de 27 ± 3.3 días, se utilizaron 4 dietas; formuladas para satisfacer las necesidades de los lechones destetados, la distribución de los probióticos fue similar a la fase 1, dándole continuidad a los tratamiento en el destete. En la fase 1 observamos una disminución en la frecuencia de diarreas en las camadas de cerdas que consumieron los probióticos ($P < 0.05$). Los lechones de 19 días de edad presentaron vellosidades del duodeno más anchas ($P < 0.05$) cuando sus madres consumieron la levadura y los lechones provenientes de cerdas que consumieron bacterias tuvieron criptas menos profundas en el ileon. Para la fase 2 los lechones que consumieron la dietas con bacterias tuvieron un mayor ($P < 0.05$) consumo diario de alimento y ganancia diaria de peso. La eficiencia alimenticia fue mayor ($P < 0.05$) en los lechones que consumieron los probióticos. Los probióticos aquí utilizados disminuyen la frecuencia de diarrea en lechones durante la lactancia y destete, favorecen el desarrollo de la mucosa intestinal de los lechones durante la lactancia y mejoran el comportamiento productivo de los lechones durante el destete.

Palabras claves: *Saccharomyces cerevisiae*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus subtilis*, morfometría intestinal.

ABSTRACT

One hundred and sixty sows (202.9 ± 23 kg) and their litters, were used to evaluate the addition of one or two different probiotics in sow diets, on sow and piglet performance during lactation, as well as wean pig performance. The two probiotics used in the present work were *Saccharomyces cerevisiae*, and a mixture of *Bacillus Licheniformis* and *B. subtilis*. During lactation (phase 1) four sow diets were used; a control diet (C) based on sorghum and soybean meal, formulated to satisfy the lactation sows needs; A second “yeast” diet similar to C plus the probiotic *Saccharomyces cerevisiae*; A third “bacteria” diet similar to C plus a probiotic with a mixture of *Bacillus Licheniformis* and *B. subtilis*; A fourth diet (LB) similar to C but with the addition of both probiotics. For phase 2, three hundred and eighty one wean pigs (avg. 8.8 ± 0.5 kg of live weight, and 27 ± 3.3 days of age) were used. Four sets of a three phase weaning diets were formulated to satisfy weaning pig’s requirements. Wean pig diets were included probiotics in a similar way than for phase 1, in order to keep continuity to diets sows were fed during lactation. During phase 1, a reduction in diarrhea frequency was observed on piglets from sows fed diets that included probiotics ($P < 0.05$). Piglets from sows fed the yeast diets, had narrower villous at duodenum level ($P < 0.05$), whereas pigs from sows fed bacteria diets had smaller crypt depth ($P < 0.05$). During phase 2, average daily feed intake and average daily gain, were higher pigs fed bacteria diets ($P < 0.05$), while gain to feed ratio was improved ($P < 0.05$) in pigs fed including probiotics. In conclusion, adding probiotics on sow’s diets during lactation, reduce diarrhea frequency and favor intestinal tissue development in piglets, while keeping probiotics in wean piglet diets improves their performance.

Keywords: ***Sow, piglets, Saccharomyces cerevisiae, Bacillus licheniformis, Bacillus subtilis, intestinal tissue development.***

CONTENIDO

	Página
Dedicatoria.....	I
Agradecimientos	II
Resumen.....	III
Abstract.....	IV
Contenido.....	VI
Lista de cuadros.....	VII
Lista de figuras.....	IX
1. Introducción	1
2. Revisión de literatura	4
2.1 Descripción de los probióticos.....	4
2.2 Colonización del tracto gastrointestinal.....	8
2.3 Desarrollo de la mucosa intestinal	14
2.4 Producción y composición de la secreción de la glándula Mamaria	16
3.0 Hipótesis	21
4.0 Objetivo General	21
4.1 Objetivos Particulares	21
5. Material y Métodos.....	22
6. Resultados.....	31
7. Discusión	35
8. Conclusiones	42
9. Anexos.....	43
10. Referencias.....	59

LISTA DE CUADROS

	Página
Cuadro 1: Comparación de la composición del calostro y leche de cerda.....	43
Cuadro 2: Cambio en la composición química del calostro y leche de la cerda durante la lactación.....	43
Cuadro 3: Dietas de lactación.....	44
Cuadro 4: Dietas de destete fase 1.....	45
Cuadro 5: Dietas de destete fase 2.....	46
Cuadro 6: Dietas de destete fase 3.....	47
Cuadro 7: Comportamiento productivo de la cerda durante la lactación.....	48
Cuadro 8: Comportamiento productivo de la camada durante la lactancia.....	48
Cuadro 9: Frecuencia de las características de las heces de la camada durante la lactancia.....	49
Cuadro 10: Frecuencia de diarrea en la camada durante la lactancia.....	49
Cuadro 11: Estimación de la producción de leche y porcentaje de grasa en calostro y leche de la cerda.....	50
Cuadro 12: Peso corporal, largo y peso relativo del intestino, largo, ancho, área y perímetro de las vellosidades intestinales de lechones al nacimiento (día 0).....	51
Cuadro 13: Profundidad, área, perímetro de criptas en el intestino delgado y relación vellosidad/cripta en lechones al nacimiento (día 0).....	52
Cuadro 14: Peso corporal, peso de intestino vacío, peso relativo, largo del intestino, largo, ancho, perímetro y área de las vellosidades intestinales de los lechones de 14 días de edad.....	53
Cuadro 15: Profundidad, área, perímetro de criptas en el intestino delgado y relación vellosidad/cripta en lechones de 14 días de edad.....	54
Cuadro 16: Peso corporal, peso de intestino vacío, peso relativo, largo del intestino, largo, ancho, perímetro y área de las	

vellosidades intestinales de los lechones al destete (19 días de edad).....	55
Cuadro 17: Profundidad, área, perímetro de criptas en el intestino delgado y relación vellosidad/cripta en lechones al destete (19 días).....	56
Cuadro 18: Diagnóstico de gestación	57
Cuadro 19: Comportamiento productivo de los lechones posdestete	57
Cuadro 20: Frecuencia de diarrea en los lechones durante la fase de Destete	58
Cuadro 21: Frecuencia de las características de las heces durante la fase de destete	58

LISTA DE FIGURAS:

	Página
Figura 1: Cantidad de bacterias totales (Unidades formadoras de colonias log ₁₀ /gramo de heces) desde el nacimiento al día 120 de edad	8
Figura 2: Evolución de bacterias aerobias y anaerobias en heces de lechones, del nacimiento al día120 de edad.....	10
Figura 3: Porcentaje de bacterias coliformes totales, <i>Bacteroides</i> spp y <i>Clostridium</i> spp. en lechones del nacimiento a los 120 días de edad	11

1. INTRODUCCIÓN

La producción porcina en el mundo está cambiando y cada día enfrenta nuevos retos, en la actualidad y principalmente en la Unión Europea, existe la tendencia a limitar el uso terapéutico de antibióticos en la alimentación animal, y prácticamente eliminar el uso de antibióticos como promotores de crecimiento (Reid y Friendship, 2002). Lo anterior se debe a la preocupación de los científicos sobre la resistencia microbiana que se puede generar por el uso continuo y a bajas dosis de los antibióticos en los animales, pudiendo afectar negativamente, y que ésta disminuya la eficacia de los tratamientos con antibiótico en el humano (Casewell *et al.*, 2003; Shea, 2004). Tras la necesidad de buscar alternativas a la problemática de la prohibición del uso de antibióticos como promotores del crecimiento, surge la utilización de probióticos en la producción animal a nivel comercial (Doyle, 2001), bajo la premisa de que la administración de grandes cantidades de microorganismos benéficos, previenen que microorganismo patógenos colonicen el intestino (Kung, 1992).

El papel de los microorganismos en la alimentación animal y humana no es reciente, data de 1908, cuando Metchnikoff sugiere que el consumo de lactobacillus del yogurt puede relacionarse con incremento en la longevidad del huésped (Metchnikoff, 1908, citado por; Holzapfel, 2001). Fuller (1989), define a los probióticos como microorganismos vivos que son suplementados en el alimento de animales, y que favorecen el balance intestinal microbiano del hospedador. Los mecanismo de acción propuestos para explicar los efectos de los probióticos sobre el desarrollo de bacterias patógenas son: 1) producción de bacteriocinas (Pinchuk *et al.*, 2001), 2) estimulación de la secreción de mucina (Mack *et al.*, 1999), 3) unión de glucomananos de la pared celular de algunos probióticos con fimbrias tipo 1 de bacterias patógenas (Mirelman *et al.*, 1980), 4) producción de proteasas contra algunas toxinas bacterianas (Castagliuolo *et al.*, 1999), 5) competencia por

nutrientes y sitios de adhesión a la mucosa intestinal con bacterias patógenas (Holzapfel *et al.*, 2001).

Se sabe, desde hace tiempo, que dos de las etapas críticas para la producción porcina son la lactancia y el destete. Los problemas productivos e infecciosos durante estas dos etapas pueden disminuir la rentabilidad de las explotaciones porcinas. En el caso de la cerda, el bajo consumo de alimento durante la lactación, y la alta producción de leche de las líneas maternas modernas (Noblet *et al.*, 1990), traen como consecuencia pérdida de tejido corporal durante el período de lactación. Dependiendo de la cantidad de tejido corporal movilizado (> 11% de la proteína corporal), se tendrán diferentes problemas, principalmente el incremento en el intervalo destete-estro (Koketsu *et al.*, 1996; Quesnel *et al.*, 2005) y la disminución de la tasa ovulatoria (Mejía *et al.*, 2002). Dado que la productividad de la cerda se mide en base al número de partos por año y el número de lechones destetados por año, y ambos parámetros productivos pueden ser modificados indirectamente por la pérdida de tejido corporal, se han utilizado una amplia variedad de estrategias para disminuir la pérdida de peso durante la lactación, orientadas principalmente a aumentar el consumo voluntario de alimento de la cerda. Dentro de estas estrategias, se encuentra el uso de los probióticos.

Como se mencionó anteriormente, la productividad de la cerda está en función del número de lechones que desteta por año, por lo tanto, la viabilidad de los lechones al momento del destete es vital. Uno de los factores que se ha mencionado como importante para evitar el crecimiento de microorganismos patógenos en el tracto digestivo es la microbiota presente en el mismo. Se sabe, que el establecimiento de la microbiota intestinal permanente en un cerdo, se obtiene hasta que estos se han adaptado al consumo de un alimento sólido (Swords *et al.*, 1993). Por lo anterior, las primeras horas de vida de los lechones y los días posteriores al destete, son críticos en la implantación microbiana. Es

importante que los nichos del tracto gastrointestinal sean ocupados por bacterias benéficas y así evitar la proliferación de bacterias patógenas (e.g. *Escherichia coli* enteropatógena, *Salmonella spp.*, *Clostridium perfringens* y *Enterococcus durans*) que traen como consecuencia diarrea, baja ganancia de peso, disminución de la eficiencia alimenticia, incremento en la variabilidad de peso en la población, e incluso problemas de mortalidad (Firkins, 2006).

Durante la primera semana de vida del lechón, los microorganismos que colonizan el tracto gastrointestinal, provienen principalmente de la microbiota intestinal de la madre (Katouli *et al.*, 1997). Entonces, una forma de proporcionar bacterias benéficas a los neonatos es a través de la manipulación de la microbiota de la madre. Al respecto, Taras *et al.* (2005) aislaron *Bacillus cereus* var. Toyoi de la digesta de lechones de 14 días de edad, procedentes de cerdas que estuvieron consumiendo el probiótico desde el día 25 de gestación. De igual forma, Schultz *et al.* (2004) realizaron un experimento, donde un grupo de mujeres consumieron *Lactobacillus rhamnosus* (2×10^9 UFC/día) durante las últimas seis semanas de gestación, como resultado se observó la presencia de este probiótico en las heces de los bebés durante sus primeros 6 meses de vida. Por lo que el objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto de la adición de *Saccharomyces cerevisiae*, o la mezcla de *Bacillus Licheniformis* y *B. subtilis*, así como de su combinación, en la dieta de cerdas en lactación sobre la productividad de la cerda y los lechones durante el periodo de lactancia y destete.

2.0 REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Descripción de los probióticos

Saccharomyces cerevisiae es una levadura, que se reproduce de forma sexual y asexual, su nombre proviene de las palabras latín *saccharum*, *mykes* y *cerevisia*, que significan hongo del azúcar de la cerveza. La pared celular de *Saccharomyces cerevisiae* constituye el 29 % del peso total de la levadura, la cual está formada por 86.5 % de polisacáridos y 13.5 % de proteína. Los polisacáridos y proteínas se distribuyen de la siguiente forma; glucanos solubles en álcali (33.5 % de la pared celular), glucanos insolubles en álcali (37.7%), quitina (3.36%) y las mananoproteínas (24.4%), de esta forma, la relación glucosa: manosa: N-acetylglucosamina de los glucanos solubles en álcali, glucanos insolubles en álcali y mananoproteínas son 90:10:0, 89:2:9 y 5:93:2, respectivamente (Nguyen y Rogers, 1998).

Saccharomyces cerevisiae ha sido investigada durante muchos años con una amplia variedad de aplicaciones, como: modelo de estudio con el fin de entender los procesos biológicos de la célula eucariota (ya que es de fácil crecimiento y manipulación genética; Parsons *et al.*, 2003; Galao *et al.*, 2007), fermentación en la fabricación del pan y el vino (tal vez la más antigua de todas), producción de enzimas para la terapia de deficiencia congénita de enzimas digestivas (Harms *et al.*, 1987), estimulación del sistema inmune (Zapata *et al.*, 2002) e incrementar la productividad animal (Jurgens *et al.*, 1997; Zapata *et al.*, 2002).

Con el objetivo de observar el comportamiento de *Saccharomyces cerevisiae* en el tracto gastrointestinal, Pecquet *et al.* (1991), utilizando humanos como sujetos experimentales, les dieron a consumir durante 5 días consecutivos tres cápsulas por día de *Saccharomyces cerevisiae* con una concentración de 10^8 células vivas cada una, encontrando que la eliminación fecal de *Saccharomyces cerevisiae* se incrementó solo durante los 5 días posteriores al tratamiento, pero después de estos se tuvo un marcado descenso, y para el día 10 del experimento

se encontró el valor más bajo. Por lo que estos investigadores concluyeron que no hay colonización o permanencia de *Saccharomyces cerevisiae* en el tracto gastrointestinal. Edwards-Ingram *et al.* (2007), reportaron resultados similares sobre la permanencia de *Saccharomyces cerevisiae* en el tracto gastrointestinal de ratones, ellos observaron que entre 1-3 horas posteriores al consumo de *Saccharomyces cerevisiae*, el mayor porcentaje de la levadura se localiza en ciego y colon, y tan solo una pequeña cantidad en íleon y estómago. Además, estos mismos autores, realizaron pruebas de resistencia (*in vitro*) de la levadura a diferente pH (1-7), no observando diferencia en el crecimiento de *Saccharomyces cerevisiae* BY3, cuando se incubó durante una hora a pH entre 3 y 7, pero si mostró una caída fuerte en el crecimiento cuando se incubó a un pH menor a 2. Esto lleva a pensar que el desarrollo de *Saccharomyces cerevisiae* en el estómago debe ser muy bajo o nulo, dado que el pH del medio estomacal fluctúa entre 2.0 y 3.5, mientras que su desarrollo a nivel intestinal puede ser favorecido por el pH (entre 5 y 6.5) del mismo (Cunningham, 1997).

Por su parte, *Bacillus subtilis* y *Bacillus licheniformis* son bacterias Gram positivas, anaerobias facultativas, las cuales forman esporas con forma de elipse (Hoa *et al.*, 2000; Clements *et al.*, 2002), no son patógenas, se aislaron primeramente del aceite y frijol soya fermentado (Alexopoulos *et al.*, 2004), no se desarrollan en pH alcalinos (pH 8) y tiene un porcentaje de esporulación de 85% a 65°C, (Hoa *et al.*, 2000; Clements *et al.*, 2002). Su pared celular está compuesta por ácido diaminopimérico, ácido glutámico, alanina, glucosalina, ácido murámico, galactosamina, fósforo y glucosa, el valor de cada uno de estos compuestos es muy similar entre ambas bacterias (Hughes, 1970). Ambas bacterias son susceptibles a los siguientes antibióticos: Ampicilina, Cloranfenicol, Tetraciclina, Gentamicina, Ciprofloxacina y Enramicina (Green *et al.*, 1999; Hoa *et al.*, 2000; Barbosa *et al.*, 2005).

Bacillus subtilis y *Bacillus licheniformis* se utilizan en un gran variedad de actividades, como; producción de proteasas y amilasas a nivel industrial (Carlisle y Falkinham, 1989), como vehiculo para la inmunización (Duc *et al.*, 2003), en la producción de antibióticos (Pinchuk *et al.*, 2001) y como probióticos (Alexopoulos *et al.*, 2004).

En el caso de *Bacillus subtilis*, también se han realizado experimentos con la finalidad de conocer su desarrollo a través del tracto gastrointestinal. En pruebas *in vitro*, Duc *et al.* (2004), mostraron que las esporas de *Bacillus subtilis* soportan perfectamente las condiciones estomacales (pepsina 1 mg/ml y pH 2.0), con una sobrevivencia del 100% y una viabilidad de 93%. Al igual las condiciones de intestino delgado (1 mg de tripsina/ml, 0.2 % de sales biliares, pH 7.5) durante 3 horas. Tam *et al.* (2006), también observaron resistencia de las esporas a las condiciones estomacales e intestinales. Sin embargo, encontraron que la forma vegetativa de *Bacillus subtilis* es demasiado sensible al medio estomacal (viabilidad de 0.008%, con un pH 2-3 por 30 minutos) y medio intestinal (viabilidad de 0.0001-0.001% por 90 minutos).

Con respecto al tránsito de *Bacillus subtilis* en el tracto gastrointestinal, Casula y Cutting (2002), observaron la presencia de *Bacillus subtilis* en las heces de ratones 6 y 24 horas posterior a su consumo, aunque la menor cantidad se observó a las 24 horas. Además, usando la técnica de Transcripción Reversa de la Reacción en Cadena de la Polimerasa (RT-PCR, por sus siglas en ingles), encontraron que *Bacillus subtilis* germina en yeyuno e íleon, pero no en duodeno, por lo que ellos concluyen que *Bacillus subtilis* puede permanecer en el intestino delgado por un tiempo corto. La explicación mencionada por los investigadores al no encontrar *Bacillus subtilis* en su forma vegetativa en duodeno fue la inhibición que ocasionan las sales biliares sobre la germinación (Spinosa *et al.*, 2000). Hoa *et al.*, (2001), observaron en ratones inoculados con *Bacillus subtilis* (una sola inoculación de 5×10^9 esporas), que la cantidad acumulada (7 días de muestreo) de esporas excretadas en las heces fueron mayores a la cantidad inoculada, y que

aún después de algunos días se observaron esporas en las heces. Sus resultados los llevaron a sugerir que las esporas pudieron germinar, multiplicarse y esporular de nuevo en el tracto digestivo.

Con los antecedentes anteriores, Tam *et al.*, (2006), realizaron un trabajo donde manipularon tres cepas de *Bacillus subtilis* (una de laboratorio y dos de origen natural) para que expresaran la toxina tetánica en distintas etapas del desarrollo de *Bacillus subtilis* (en algunos casos en la espora, pero hasta el momento de haber germinado y esporulado de nuevo, y otras en su forma vegetativa). Después de inocular estas cepas en el estómago de ratones, los investigadores encontraron que los valores mayores de IgG anti-toxina tetánica en el suero de los ratones se presentaron para el día 23 y 68 del experimento. Esto corresponde al tiempo en que la toxina se expresa en la forma vegetativa y en la espora de *Bacillus subtilis*, respectivamente, con lo que demostraron que *Bacillus subtilis* germina y esporula en el tracto gastrointestinal de ratones. Posteriormente observaron que el único sitio donde germinaron las esporas fue el yeyuno, pero no a una tasa tal que les permita permanecer como microbiota permanente, por lo que concluyeron que *Bacillus subtilis* no coloniza el tracto gastrointestinal. Estos mismo investigadores (Tam *et al.*, 2006) cultivaron las 3 cepas anteriores en medios enriquecidos con nitratos y nitritos en ausencia de oxígeno, observando que las tres cepas pueden crecer en un medio anaerobio (resultados similares fueron reportados por Clements *et al.*, 2002), pero solo las de origen natural pueden esporular (eficiencia del 12 a 56%). Lo anterior es un indicativo de que *Bacillus subtilis* puede desarrollar en el medio intestinal anaerobio.

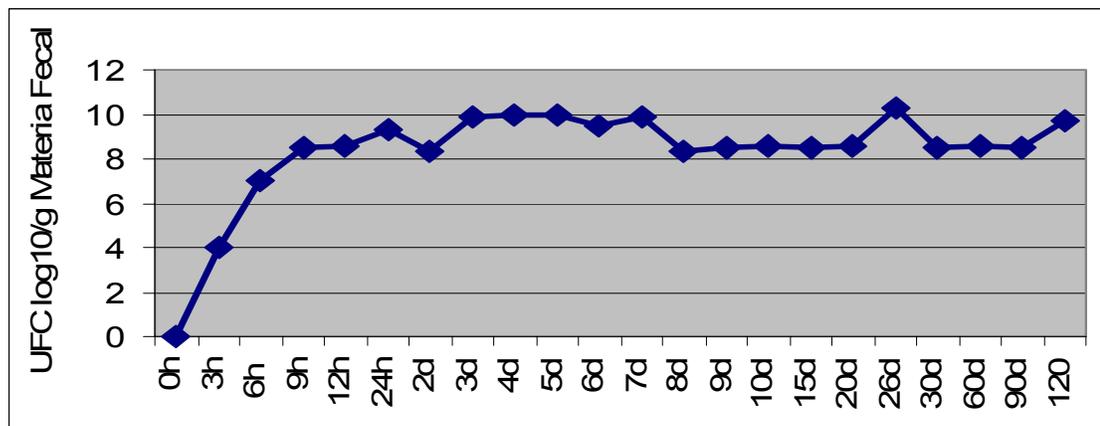
La salud intestinal es definida como la habilidad para mantener un balance en el ecosistema del tracto gastrointestinal aun a pesar de los cambios constantes en el tracto (Melin *et al.*, 1997). Se considera que una bacteria coloniza un nicho del tracto gastrointestinal, cuando se encuentra en cantidad suficiente en dicho espacio, se mantiene una población significativa durante el tiempo de vida del animal, además de que no sea necesaria la dosificación constante del microorganismo por vía oral. Para lograr esto, es preciso que los microorganismos

se multipliquen a una tasa mayor o igual a la tasa de eliminación del tracto gastrointestinal (Mackie *et al.*, 1999).

2.2 Colonización bacteriana del tracto gastrointestinal

El comportamiento de sucesión bacteriana del tracto digestivo del lechón durante los primeros meses de vida ha sido estudiado por varios investigadores. Entre estos Swords *et al.*, (1993), observaron la evolución de la microbiota fecal (de cerdos) durante los primeros 4 meses de vida, periodo que fue dividido en tres fases. La primera fase, corresponde a la primera semana de vida, la segunda fase comprende desde el final de la primera semana de vida hasta el destete, y la tercera fase concierne desde el destete hasta la adaptación al alimento seco. Sin embargo, el establecimiento de la microbiota intestinal, en un neonato es compleja, ya que comprende: la contribución bacteriana proveniente de la madre, la del medio ambiente que lo rodea, de la interacción de la microbiota con el hospedador (Mackie *et al.*, 1999), de factores dietarios, no dietarios y de las diferencias propias de cada individuo (Simpson *et al.*, 2000; Inoue *et al.*, 2005).

Gráfica 1. Cantidad de bacterias totales (Unidades formadoras de colonias log₁₀ / gramo de materia fecal) desde el nacimiento a 120 días de edad.



Adaptado de Swords *et al.* (1993).

Antes del nacimiento, el tracto gastrointestinal de los lechones es estéril, al momento del nacimiento estos tienen contacto con una amplia variedad de

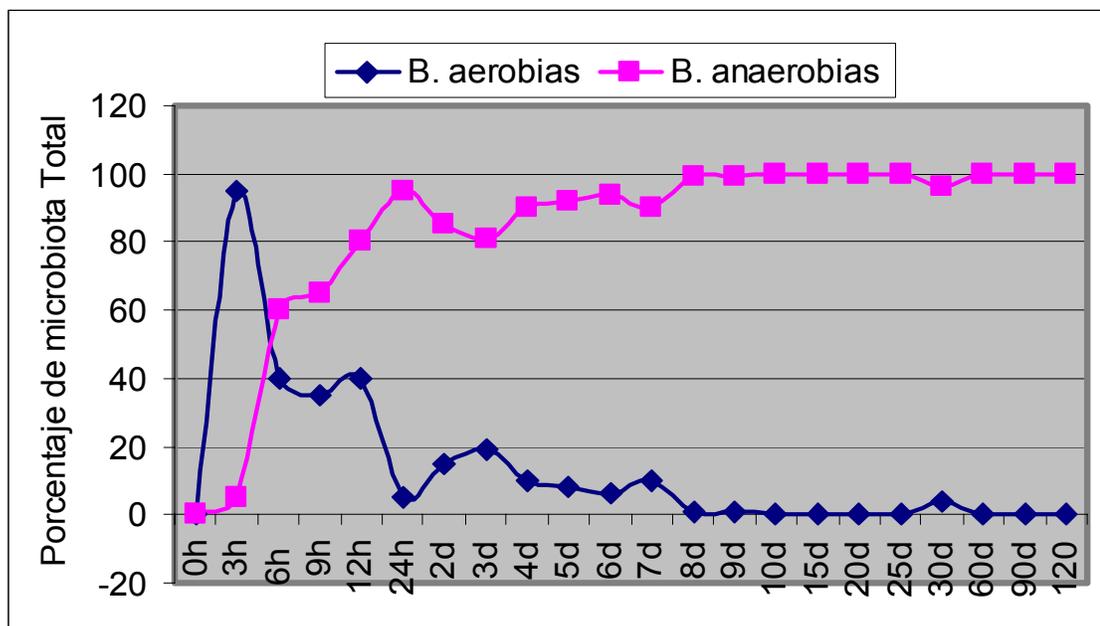
bacterias provenientes del canal de parto y del contacto con las heces maternas (Conway, 1997), posteriormente durante el primer amamantamiento, el recién nacido traga las bacterias que se encuentran en los pezones y epitelio del conducto del pezón (Mackie *et al.*, 1999).

La primera fase de colonización bacteriana en el intestino de los lechones es extremadamente rápida, a las 12 horas de vida del lechón, el colon tiene una población bacteriana de 10^9 Unidades formadoras de colonias por gramo de heces (UFC/g; Gráfica 1). De las bacterias encontrados en ésta etapa, predominan las bacterias aerobias y anaerobias facultativas (80% de la flora), la presencia de estas bacterias se debe a la disponibilidad de oxígeno en el tracto gastrointestinal. Conforme se utiliza el oxígeno, el ambiente del tracto cambia, favoreciendo el crecimiento y colonización de las bacterias anaerobias estrictas, las cuales a solo 48 horas después del nacimiento representan el 90% de la microbiota total (Gráfica 2; Swords *et al.*, 1993). Usando impresión dactilar y la capacidad fermentativa de las bacterias intestinales en la cerda y sus lechones, Katouli *et al.* (1997), encontraron una alta similitud entre la flora intestinal de la madre y de sus crías durante la primer semana de vida de los lechones. Lo que confirma que la microbiota intestinal de la cerda es la primera fuente de bacterias para la colonización intestinal de los lechones. Sansom y Gleed (1981), usaron isótopos radioactivos en el alimento de cerdas en lactación (alojadas en corrales de piso sólido), encontraron que los lechones consumen un promedio de 20.9 ± 2.5 gramos de heces de cerda por día, es por esto que la microbiota intestinal de la madre tiene influencia directa sobre la microbiota intestinal del lechón en esta fase.

Para la fase dos, se observó un incremento de la diversidad bacteriana, donde se manifiesta el dominio de los géneros lactobacillus y estreptococos, con una concentración de 10^7 a 10^9 UFC/g de digesta (Swords *et al.*, 1993; Inoue *et al.*, 2005). En esta misma fase se disminuye la proporción de las bacterias

Coliformes totales, *Bacteroides spp.*, *Clostridium spp.* y *Enterococcus* con respecto a la fase uno de sucesión bacteriana (Gráfica 3; Swords *et al.*, 1993; Melin *et al.*, 1997). Además, durante esta fase (posterior a una semana de lactancia) se ha reportado que los patrones bacterianos de los lechones y la cerda ya no fueron tan similares (Katouli *et al.*, 1997).

Gráfica 2. Evolución de bacterias aerobias y anaerobias en heces de lechones del nacimiento al día 120 de edad.

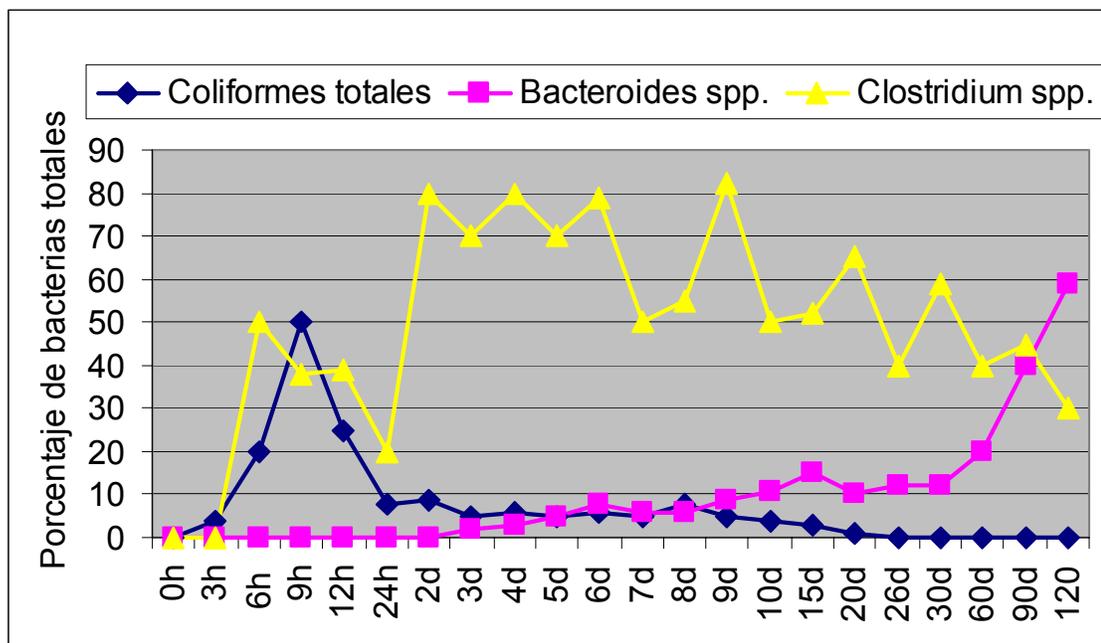


Adaptado de Swords *et al.* (1993).

En la fase 3 de sucesión bacteriana que corresponde al periodo desde el destete hasta la adaptación al alimento sólido, los cambios en la fuente de nutrientes, forma y frecuencia de alimentación, traen como consecuencia modificaciones en la flora intestinal, ocasionadas por los cambios en la cantidad y tipo de sustrato disponible para la misma (Inoue *et al.*, 2005). Además, el ayuno posterior al destete puede provocar inflamación en el intestino delgado, provocando alteraciones en la estructura y función del intestino (McCracken *et al.*,

1999). Wallgren y Mellin (2001), reportan que como consecuencia del bajo consumo de alimento se disminuye la biodiversidad de la microbiota intestinal durante la primera semana post-destete. Sin embargo, Inoue *et al.* (2005) reportaron que para el día 24 post-destete, se incrementó nuevamente la diversidad microbiana en el intestino. Adicionalmente, esta tercera fase de colonización bacteriana, se caracteriza por la sustitución de las bacterias Gram positivas, por bacterias Gram negativas (género *Bacteroides*), mismas que representarán uno de los principales géneros bacterianos en la microbiota del cerdo adulto (Swords *et al.*, 1993). También, se ha reportado una disminución en la cantidad de *E. coli*, *Lactobacillus spp.* y *Enterococcus*, y un incremento de *Bifidobacterium* (Melin *et al.*, 1997; Simpson *et al.*, 2000; Franklin *et al.*, 2002). Franklin *et al.* (2002), mencionan que el incremento de *Bifidobacterium sp.*, puede deberse a que disminuyó la competencia por espacio y nutrientes.

Gráfica 3. Porcentajes de bacterias Coliformes totales, *Bacteroides spp.* y *Clostridium spp.* en lechones del nacimiento al día 120 de edad.



Adaptado de Swords *et al.* (1993).

Los efectos de la microbiota intestinal en el tracto digestivo son bastante diversos, va desde la síntesis de vitaminas, producción de enzimas, transformación de las sales biliares, producción de ácidos grasos de cadena corta, maduración del tracto digestivo, estimulación del sistema inmune, exclusión competitiva con bacterias patógenas (Berg, 1980), degradación de la mucina (Midtvedt *et al.*, 1994), hasta la producción de metabolitos de la degradación de proteína (amonio, cresol), y enzimas (B-glucuronidasa y B-glucosidasa), que son nocivas para la salud (Edwards y Parret, 2002). Metzler *et al.*, 2005 mencionan que existen varios factores que pueden ocasionar un desequilibrio entre las bacterias patógenas y no patógenas del tracto gastrointestinal, entre los que se señalan: parásitos, mohos, micotoxinas, pobre calidad de agua y alimento, humedad, amonio, ácido sulfúrico, polvo, variaciones de temperatura, cambios de jerarquía social y un tracto digestivo inmaduro.

En varios trabajos se ha evaluado el efecto de los probióticos tanto en animales como en humanos sobre los patógenos gastrointestinales, obteniéndose resultados variables. Tal es el caso de Line *et al.* (1998), quienes utilizaron pollos a los que se alimentó con una dieta que contenía *Saccharomyces boulardii* (1 g/kg de alimento). Estos pollos fueron desafiados con *Salmonella typhimurium* y *Campylobacter jejuni*, y se observó que se disminuyó la colonización cecal de *Salmonella typhimurium*, mas no de *Campylobacter jejuni*. Se debe tomar en cuenta que no todas las cepas de *Salmonella typhimurium* pueden ser aglutinadas o sedimentadas por el género *Saccharomyces* (Mirelman *et al.*, 1980; Pérez *et al.*, 2005), la capacidad de adhesión de *Salmonella typhimurium*, está relacionada con la presencia de fimbrias A tipo 1 (Althouse *et al.*, 2003). Sin embargo, Pecquet *et al.* (1991), no observaron resistencia a colonización de bacterias patógenas (*E. coli* H10407, *Staphylococcus aureus*, *Vibrio parahaemolyticus* J525C, *Vibrio cholerae* 569B y *Clostridium difficile* IGR786) al incluir *Saccharomyces cerevisiae* en la dieta de ratones. Por otro parte, La Ragione *et al.* (2001, 2003), también reportan disminución de la colonización intestinal de *E. coli* 078: K80, *Salmonella*

enterica serotipo enteritidis y *Clostridium perfringens* en pollos al incluir *Bacillus subtilis* en las dietas.

Otros mecanismos utilizados por los probióticos para evitar los efectos de las bacterias patógenas son; la producción de enzimas y bacteriocinas, tal es el caso de *Saccharomyces boulardii* que libera una proteasa (54-kDa) que digiere la toxina A de *Clostridium difficile* (Castagliuolo *et al.*, 1999), *Bacillus subtilis* PB6 produce una bacteriocina (960 a 980 Da) que inhibe el crecimiento (*in Vitro*) de *Clostridium perfringens* ATTC 13124, *Clostridium difficile*, *Streptococcus pneumoniae*, *Campylobacter jejuni*, y *Campylobacter coli* (Yeow-Lim y Tan, 2005). White *et al.* (2002), al usar levaduras de cerveza, encontraron aumentos en *Lactobacillus* a nivel fecal en lechones a los 28 días post-destete, más no encontraron modificaciones en las cantidad de Coliformes totales, *E. coli*, *Bifidobacterium spp.* y *Clostridium perfringens*. De igual forma, Martínez *et al.* (2002), no encontraron modificaciones en los grupos bacterianos *Bacteroidaceae*, *Eubacteria*, *Clostridia*, *Peptostreptococci*, *Lactobacilli* y *Enterobacteriaceae*, a nivel fecal en cerdas que recibieron *Saccharomyces cerevisiae* desde el día 76 de gestación hasta el momento del destete.

Por otro lado, la microbiota intestinal es uno de los factores que modulan el desarrollo del epitelio del intestino delgado en los lechones. Otros factores importantes para éste desarrollo son los factores de crecimiento presentes en el calostro y la leche (factor de crecimiento epidermal, insulina, factor de crecimiento similar a insulina I y II; Donovan y Odle, 1994), la secreción biliar, secreción pancreática, los corticoesteroides, la hormona del crecimiento, efectos mediados por el sistema nervioso sistémico y entérico, además de efectos mediados por el sistema linfático (Cummins y Thompson, 2002).

2.3 Desarrollo de la mucosa intestinal

Conforme el tracto digestivo de los lechones va madurando, los cambios que se observan en el mismo, durante el periodo la lactancia, varían en las tres secciones del intestino delgado (duodeno, yeyuno e íleon; Skrzypek *et al.*, 2005, 2007). Al nacimiento, las vellosidades de las tres secciones del intestino delgado tienen forma de dedo. En el caso del duodeno, para los días 21 a 38 de vida del lechón, las vellosidades pasan de forma de dedo, a una forma de hoja (i.e. se ensanchan y son irregulares en su base). En cambio, en el yeyuno, las vellosidades de forma de dedo pasan a una forma de lengua entre los días 7 y 21 de edad, mientras que en el íleon, el cambio a vellosidades en forma de lengua se muestra a partir del día 7 post-nacimiento.

Shirkey *et al.* (2006), en dos experimentos evaluaron el efecto de *Escherichia coli* (EC) no patógena, *Lactobacillus fermentum* (LF), *Staphylococcus epidermidis* (SE) y exposición convencional a microorganismo (ECM), sobre el desarrollo del intestino delgado en lechones gnotobióticos (GF) de 13 días de vida. En el primer experimento, observaron que el largo relativo del intestino delgado fue mayor para los lechones con ECM en comparación con los lechones inoculados con LF pero similar a EC y SE. Sin embargo, en el segundo experimento no encontraron diferencias en el largo relativo del intestino y masa relativa del intestino delgado. En los dos experimentos la profundidad de las criptas fue mayor para los lechones ECM en todas las secciones del intestino delgado, con un valor intermedio para EC y la menor profundidad se observó en los lechones GF, LF y SE. La menor altura de las vellosidades y criptas más profundas de los lechones ECM y EC, indicaron que hubo un mayor intercambio de enterocitos para estos últimos que para los lechones GF, LF y SE. Además, estos investigadores mencionaron que el efecto de los diferentes microorganismos sobre la altura de las vellosidades fue menor en duodeno, no así para el resto del intestino delgado. Willing y Van Kessel (2007), encontraron comportamientos similares en la altura de las vellosidades y profundidad de las criptas usando lechones gnotobióticos inoculados con *E. coli* no

patógena, *Lactobacillus fermentum* y exposición a heces de una cerda adulta (forma convencional).

De igual forma, hay estudios de morfometría intestinal en animales que han recibido alimento con probióticos, entre ellos se encuentra lo reportado por Santin *et al.* (2001), donde encontraron que la inclusión de 0.2% de paredes celulares de *Saccharomyces cerevisiae* en la dieta de pollos de engorda, incrementó la altura de las vellosidades del duodeno, yeyuno e íleon en los primeros 7 días de vida de los pollos. Sin embargo, en lo que respecta a la profundidad de las criptas, solo fueron menos profundas en yeyuno. Los investigadores no encontraron diferencias en la altura de las vellosidades, ni profundidad de las criptas para los días 28 y 42 de vida de los pollos. Estos investigadores, especularon que el mayor tamaño de las vellosidades intestinales de los pollos tratados con paredes celulares de *Saccharomyces cerevisiae* puede deberse a un incremento en la salud intestinal, que se ve reflejada en el comportamiento productivo de los pollos. Zhang *et al.* (2005), también encontraron un incremento en la altura de las vellosidades del íleon en pollos, cuando se adicionaron en la dieta *Saccharomyces cerevisiae* y paredes celulares de *Saccharomyces cerevisiae*, pero no encontraron efecto sobre la profundidad de las criptas.

Samanya y Yamauchi (2002), adicionaron a la dieta de pollos niveles ascendentes de *Bacillus subtilis* variedad *natto* y observaron que la altura de las vellosidades del duodeno fue mayor en la dieta que contenía 0.2 % de *Bacillus subtilis*, con respecto al control (0% *Bacillus subtilis*). Sin encontrar diferencias entre las inclusiones de 0.2, 0.5 y 1 % de *Bacillus subtilis*. A nivel del íleon, la dieta con 1% de *Bacillus subtilis* tuvo una altura de vellosidades mayor a la dieta control. De igual forma, Pelicano *et al.* (2005) observaron que la adición de *Bacillus subtilis* en dietas de pollos de engorda durante los primeros 21 días de edad incrementa la altura de las vellosidades y profundidad de las criptas del yeyuno e íleon.

Se ha sugerido que al tener una mayor altura de vellosidades en el intestino delgado, se tendrá una mayor superficie de contacto de los nutrientes con la vellosidad, misma que favorecerá una mayor digestión y absorción de nutrientes presentes en la luz intestinal (Santin *et al.*, 2001). No necesariamente el mayor tamaño de las vellosidades del intestino delgado se ve reflejado en una mayor digestión de nutrientes y en comportamiento productivo en los animales (Pelicano *et al.*, 2005 y 2005a; Gómez *et al.*, 2007, 2007a).

Como se mencionó anteriormente, Donovan y Odle (1994), proponen que otros factores importantes para el desarrollo del epitelio intestinal son los factores de crecimiento presentes en el calostro y la leche.

2.4 Producción y composición de la secreción de la glándula mamaria.

A la secreción de la glándula mamaria que se produce durante las últimas horas de gestación y las primeras 24 a 48 horas posteriores al parto, se le considera “calostro”. El calostro es de composición única (Cuadro 1), de consistencia viscosa, y color cremoso oscuro (Klobasa *et al.*, 1987), que contiene casi tres veces más proteína que la leche. Esta mayor cantidad de proteína, se debe a la cantidad de proteína sérica (inmunoglobulinas) presentes en el calostro. Sin embargo, su contenido de grasa y lactosa es un poco menor que el de la leche. Debido a su alta concentración de inmunoglobulinas el calostro tiene como principal objetivo el conferir inmunidad pasiva a los recién nacidos, así como nutrirlos.

A la secreción de la glándula mamaria 72 horas posteriores al parto, fluida y de color blanco, se le considera leche. El objetivo principal de la leche es nutrir al neonato y proveerle de inmunidad pasiva. En comparación con el calostro (Cuadro 1), la leche contiene una menor cantidad de proteína, pero una cantidad mayor de lactosa, grasa, calcio y fósforo. La leche de cerda es considerada como un alimento completo para los lechones. Durante los primeros días de vida de los lechones es su única fuente de nutrientes, por lo tanto, la tasa de crecimiento de

los lechones depende exclusivamente de la capacidad de producción de leche de la cerda (Mavromichalis, 2006).

Varios han sido los investigadores que han demostrado que la composición de la secreción de la glándula mamaria no es constante durante la lactación (Heidebrecht *et al.*, 1950; Coffey *et al.*, 1982; Klobasa *et al.*, 1987; Csapó *et al.*, 1996; Toner *et al.*, 1996), sino que está cambiando continuamente (Cuadro 2). De los cambios observados, las modificaciones más significativas se llevan a cabo durante los primeros días posteriores al parto es la transición de calostro a leche.

Tampoco la producción de leche en las cerda es constante durante la lactación, presenta un incremento rápido durante los primeros días, alcanzando el pico de producción entre los 14 y 21 días, para posteriormente comenzar a descender; se ha reportado que al final de la lactación (21 días en adelante) el descenso en la producción de leche es del 14 % (Toner *et al.*, 1996; Pluske *et al.*, 1998; Nielsen *et al.*, 2002), cabe señalar que fueron lactaciones convencionales de 28 a 42 días.

Aparte de los cambios en la composición y producción de la leche propios del transcurso de la lactación en las cerdas, existen otros factores que modifican la producción y/o composición de la leche, como son: raza, tamaño de camada (Toner *et al.*, 1996; Auldist *et al.*, 2000 y Nielsen *et al.*, 2002), frecuencia de amamantamiento (Spinka *et al.*, 1997; Auldist *et al.*, 2000), cantidad de proteína en la dieta (King *et al.*, 1993), consumo bajo de proteína y lisina total (Clowes *et al.*, 2003; Clowes *et al.*, 2003a), consumo de energía (Coffey *et al.*, 1982; Noblet y Etienne, 1986), condición corporal (Revell *et al.*, 1998), temperatura ambiental (Renaudeau y Noblet, 2001; Spencer *et al.*, 2003), así como la utilización de probióticos en la dieta de la cerda (Alexopoulos *et al.*, 2004; Kritas *et al.*, 2006).

Con respecto al uso de probióticos en la dieta de cerdas en lactación, Alexopoulos *et al.* (2004) y Kritas *et al.* (2006) encontraron un incremento en el porcentaje de grasa (6.29 vs 6.09 %) y proteína (4.73 vs 4.47 %) en la leche de cerdas para el día 14 de lactación cuando adicionaron *Bacillus subtilis* y *Bacillus licheniformis* en la dieta. Sin embargo, no encontraron diferencias en la cantidad de lactosa, colesterol y sólidos totales. Estos investigadores explican el incremento en la cantidad de grasa en la leche debido a que estas cerdas tuvieron una mayor concentración de colesterol y lípidos totales en suero sanguíneo. La mayor concentración de colesterol y lípidos totales en el suero fue atribuido al mayor consumo de alimento para el día 14 de lactación (79.2 vs 76.2 kg). Con el uso de *Saccharomyces cerevisiae* en la dieta de cerdas en lactación, se han reportado camadas más pesadas al destete (Pérez *et al.*, 2002), el incremento en el peso de la camada se le atribuyó a una mayor producción de leche de la cerda, y la producción de leche a su vez, por el incremento en el consumo voluntario de alimento de la cerda.

El consumo de alimento en la cerda durante el periodo de lactación es demasiado importante, ya que durante esta etapa los requerimientos nutricionales para la producción de leche son altos (Noblet *et al.*, 1990). Si estos requerimientos no son cubiertos con los nutrientes consumidos en el alimento, se ocasionará la movilización de tejido corporal para la producción de leche. Por tanto, la cantidad de tejido movilizado dependerá de la cantidad y calidad de nutrientes consumidos en la dieta durante la lactación. La trascendencia de evitar que las cerdas pierdan cantidades excesivas de tejido corporal durante la lactación estriba en la relación que tiene la pérdida de tejido corporal con el comportamiento reproductivo posterior al destete. Las cerdas que pierden más del 12% de su masa proteica durante la lactación presentan un menor porcentaje de folículos grandes (> 4.0mm) al momento del destete (23.6 vs 55.4 %), teniendo por consiguiente menor volumen de líquido folicular y cantidad de estrógenos en el líquido folicular (Clowes *et al.*, 2003 y 2003a) y la tasa ovulatoria se disminuye (20 vs 23.4; Mejía

et al., 2002; Quesnel *et al.*, 2005). El porcentaje de cerdas que retornan a estro dentro de los 8 días posteriores al destete es menor en las cerdas que pierden 11 % de su masa proteica (58 vs 92 %), que en cerdas que pierden 8% (Quesnel *et al.*, 2005). En cerdas que pierden más del 15 % de su peso corporal o presentan una disminución del 20 % en la profundidad de grasa dorsal, el intervalo destete-estro se incrementa (18 vs 8 días; Koketsu *et al.*, 1996). Clowes (2001; citado por Clowes *et al.*, 2003b) realizó un análisis de regresión con los intervalos destete-estro y la pérdida de tejido corporal de 16 experimentos publicados, y observó que la pérdida de tejido graso durante la lactación explica solo el 24 % de la variación en el intervalo destete-estro, mientras la pérdida de tejido proteico explica el 47 % del intervalo destete-estro, lo que nos indica que la pérdida de tejido proteico tiene un mayor efecto sobre los días de retorno a estro post-destete en las cerdas. Con el uso de *Bacillus licheniformis-Bacillus subtilis* Alexopoulos *et al.* (2004) reportaron una disminución en la pérdida de peso de las cerdas durante la lactación.

En conclusión, a pesar de la amplia información que existe sobre los probióticos *Saccharomyces cerevisiae*, *Bacillus licheniformis* y *subtilis* en la alimentación de cerdos, hace falta información de los siguientes puntos, debido a:

a) Existen reportes contradictorios en el comportamiento productivo de la cerda durante la lactación (Veum *et al.*, 1995; Jurgens *et al.*, 1997; Pérez *et al.*, 2001, 2001a y 2002; Zapata *et al.*, 2002; Alexopoulos *et al.*, 2004; Zerrahn *et al.*, 2007).

b) No hay reportes de experimentos donde se haya medido o calculado la producción de leche en cerdas.

c) No se tienen reportes del cambio de composición corporal en las cerdas durante la lactación.

d) No hay reportes sobre la morfometría intestinal de lechones durante la lactancia.

e) Existen reportes contradictorios en la literatura, sobre en el comportamiento productivos de los lechones posdestete (Jurgens *et al.*, 1997; van Heugten *et al.*, 2003; Hildabrand *et al.*, 2005, 2006; Ragland *et al.*, 2006; Lucero *et al.*, 2007)

3.0 Hipótesis

La adición de dos probióticos, uno en base a *Saccharomyces cerevisiae* y otro en base a una mezcla de las bacterias *Bacillus Licheniformis* y *B. subtilis*, o bien de la combinación de ambos probióticos a la dietas de cerdas desde el día 100 de gestación y hasta el final de la lactación, mejorará el desempeño productivo y reproductivo de la cerda y de los lechones, durante los periodos de lactancia y destete.

4.0 Objetivo general

Evaluar el efecto de la adición de *Saccharomyces cerevisiae*, o la mezcla de *Bacillus Licheniformis* y *B. subtilis*, así como de su combinación, en la dieta de cerdas en lactación sobre la productividad de la cerda y los lechones durante el periodo de lactancia y destete.

4.1 Objetivos particulares

Evaluar el efecto de la adición de *Saccharomyces cerevisiae*, *Bacillus Licheniformis* y *B. subtilis* así como de su combinación, en la dieta de cerdas en lactación sobre:

1. Consumo voluntario de alimento durante la lactación y como consecuencia de éste sobre la composición corporal de la cerda durante la lactación y sobre el intervalo destete-estro y la tasa de gestación posdestete.
2. Integridad intestinal de los lechones en el periodo de lactancia.
3. El porcentaje de grasa en calostro y leche de las cerdas.

Evaluar el efecto de la adición de *Saccharomyces cerevisiae*, *Bacillus Licheniformis* y *B. subtilis* así como de su combinación, en la dieta de lechones durante la fase de destete sobre:

1. Consumo voluntario de alimento.
2. Ganancia diaria de peso.
3. Eficiencia alimenticia.

5.0 MATERIAL Y MÉTODOS

El experimento se realizó en dos Fases. En la primera fase se estudió el efecto de *Saccharomyces cerevisiae*, la mezcla de *Bacillus Licheniformis* y *Bacillus subtilis*, y su combinación sobre el comportamiento productivo de la cerda y su camada en el periodo de lactación. En la segunda fase se evaluó el efecto de *Saccharomyces cerevisiae*, la mezcla de *Bacillus Licheniformis* y *Bacillus subtilis*, y su combinación sobre el comportamiento productivo de los lechones posdestete.

FASE 1

Sitio experimental. El presente trabajo se realizó de febrero del 2006 a marzo del 2008, en las instalaciones porcinas del Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Fisiología y Mejoramiento Animal del INIFAP, ubicado en el km 1 de la carretera a Colón. Ajuchitlán, municipio de Colón, Querétaro.

Diseño Experimental

Se usó un diseño de bloques completos al azar, con arreglo factorial 2X2X2, donde los factores fueron; 1) *Saccharomyces cerevisiae*, 2) *Bacillus licheniformis* y *B. subtilis* y 3) número de parto, y los niveles de los factores: presencia (1) o ausencia (0) de *Saccharomyces cerevisiae*, *Bacillus licheniformis* y *B. subtilis*, para el factor número de parto, 1 corresponde a cerdas de primer y segundo parto y 2 a cerdas de tres o más partos, los bloques correspondieron a los grupos de parición.

Dietas experimentales. En el presente experimento se utilizaron 4 dietas (Cuadro 3). Una dieta control, en base a sorgo y soya, formulada para satisfacer las necesidades de la cerda en lactación (NRC, 1998); para la segunda dieta se utilizó la dieta control adicionada con la levadura *Saccharomyces cerevisiae* (3×10^{13} UFC/ ton); en la tercera dieta se utilizó también la dieta control mas la adición de las bacterias *Bacillus Licheniformis* y *B. subtilis* (1.1×10^{12} UFC/ ton); y para la

cuarta dieta se utilizó la misma dieta control adicionada tanto con *Saccharomyces cerevisiae*, como de *Bacillus Licheniformis* y *B. subtilis*. No se incluyeron antibióticos en las dietas.

Animales. Para la realización de éste proyecto se utilizaron por tratamiento 40 cerdas gestantes y sus camadas durante toda la lactación (Landrace x Duroc, con un peso promedio de 202.9 ± 23 kg), es decir se usaron un total de 160 cerdas, y la unidad experimental fue la cerda y su camada.

Durante los primeros 99 días de gestación todas las cerdas recibieron el mismo manejo y dieta (2.2 kg /día ó 6.15 Mcal/EM/día, dividida en dos comidas), para el día 100 de gestación las cerdas se asignaron de manera aleatoria a una de las cuatro dietas experimentales antes descritas (Control, Levadura, Bacterias, y LevBac; Cuadro 3). La cantidad de alimento ofrecida a las cerdas del día 100 al parto fue determinada (NRC, 1998) para cubrir sus requerimientos. El día 109 de gestación las cerdas fueron trasladadas a la sala de maternidad (jaula Total: 2.70 m. largo x 1.54 m. ancho, espacio de la cerda: 0.84 m. ancho x 1.85 m. largo).

Variables de respuesta

Pérdida de peso durante la lactación

Antes de ingresar a la sala de maternidad se registró el peso vivo de las cerdas, estos pesos más el número y peso de lechones nacidos totales al momento del parto fueron utilizados para calcular el peso de las cerdas después del parto (Rentería *et al.*, 2007, $\text{Peso de la cerda después del parto, kg} = -5.39 + (0.975 \times \text{PCAP, kg}) - (1.281 \times \text{PTC, kg}) + (0.962 \times \text{LNT})$). Donde, PCAP= Peso de la cerda antes del parto, PTC= Peso total de la camada y LNT= lechones nacidos totales). El día del destete, las cerdas se pesaron nuevamente, con la finalidad de calcular la pérdida de peso durante la lactación.

Cambio en la composición corporal

Al inicio y al final de la lactación a las cerdas se les midió la profundidad de grasa dorsal a la altura de la última costilla en P2 (6.5 cm de la línea media), con ultrasonido de tiempo real, (HS-2000) con una frecuencia de 3.5 MHz. Estas mediciones fueron utilizadas para predecir la composición química corporal de la cerda (Dourmad *et al.*, 1997) al inicio y al final de la lactación, para así poder analizar los cambios en la composición corporal de la cerda durante la lactación.

Consumo de alimento durante la lactación

Al día del parto las cerdas recibieron dos kilogramos de alimento (día 0), se incrementó el alimento ofrecido durante la primer semana en 0.5 kg/día (si la cerda consumió todo el alimento ofrecido), para posteriormente llegar al consumo *ad libitum*. El alimento se sirvió 4 veces al día (8:00, 12:00, 16:00 y 20:00 hrs), el rechazo fue pesado por la mañana (7:30 am, antes de servir alimento correspondiente al día siguiente), de esta forma se calculó el alimento consumido por día. El día del destete las cerdas no recibieron alimento, para evitar que el consumo de alimento influyera en el peso de la cerda al término de la lactación.

Lechones

Al momento del parto se registró el número de lechones nacidos totales, lechones nacidos vivos, lechones nacidos muertos, momias, así como el peso de cada uno de ellos. Se usó el peso total de la camada y el número de lechones nacidos totales como variables independientes para calcular el peso de la cerda después del parto (Rentería *et al.*, 2007). Con la finalidad de homogenizar el tamaño de camada dentro y entre tratamientos, se reacomodaron (donando y adoptando lechones) las camadas entre 9 y 12 lechones dentro de las 24 horas posteriores al parto. Posterior al reacomodo y al destete se registró el número y peso de los lechones. Con el peso de la camada al inicio y al destete se calculó la ganancia de peso de la camada durante la lactación. No se utilizó preiniciador para los lechones durante la lactancia.

Características de las heces

Se registraron la características de las heces de los lechones por camada, empleando los valores de severidad de la diarrea descritos por Kyriakis *et al.*, (1999), en el que clasifican a las heces de acuerdo a sus características físicas; donde 0 corresponde a heces normales, 1 heces pastosas, 2 heces líquidas. Adicionalmente, se llevó un registro independiente de la presencia o ausencia (1 ó 0, respectivamente) de diarrea en las camadas durante toda la lactancia.

Producción y composición de calostro y leche de cerda

Para la toma de muestras de calostro y leche se seleccionaron 4 tetas por cerda, siendo las mismas para todas las cerdas y durante los días de muestreo (0, 7 y 14 de lactación). Los lechones se separaron de la cerda por 2 horas, posteriormente se le aplicó de 5 a 10 UI de oxitocina a la cerda, para estimular la bajada de la leche, se obtuvieron 30 ml de leche en frascos de plástico, los cuales se identificaron con el número de la cerda, día de lactación y tratamiento correspondiente, las muestras se mantuvieron en congelación (-20 °C) hasta su análisis. Se tomaron 12 muestras por tratamiento por día de muestreo. A las muestras se les determinó el porcentaje de grasa por el método de butirometría según Gerber (ISO 2446:2008)

Para predecir la producción láctea de la cerda se utilizó la ecuación de Noblet y Etienne (1989); Producción de Leche, kg = $2.50 (\pm 0.26 * GDP) + 80.2 (\pm 7.8) * PV$ lechón (kg) + 7. Donde: GDP es la ganancia diaria de peso por lechón durante la lactancia (21 días) y PV es el peso vivo del lechón al inicio de la lactancia.

Morfometría de intestino delgado

Para evaluar los cambios histológicos en el intestino delgado de los lechones, se sacrificaron 18 lechones por tratamiento (i.e. 18 X 4 tratamientos, total 72 lechones), divididos en 3 fechas de sacrificio (día 0, 14 y 19 días de edad). Los lechones fueron insensibilizados con electricidad y desangrados por degollamiento (Biagi *et al.*, 2007). Posteriormente, se abrió la cavidad torácica y

abdominal, se ligó con dos suturas en la unión del duodeno y píloro, para evitar la salida de contenido gástrico e intestinal, además de servir para identificar el duodeno; a continuación se disecó todo el intestino delgado. Se registró el peso y el tamaño del intestino delgado; enseguida el intestino delgado se dividió en tres secciones, para así tomar la muestra (5 cm) correspondiente a duodeno (sección proximal, a 10 cm de la unión piloro-duodenal), yeyuno (sección media) e íleon (sección distal, a 10 cm anteriores a la unión íleo-cecal). Una vez obtenidas las muestras de intestino, se lavaron con solución salina fisiológica y se fijaron en formalina neutra al 10% estabilizada. Los tejidos se procesaron con la técnica de inclusión en parafina, a continuación se hicieron cortes del tejido a 5 micras, para la tinción de los cortes se usó hematoxilina y eosina. Las mediciones se realizaron con ayuda de un software de medición de imágenes y microscopía (AnaliSIS™, Soft Imaging System). La medida de la altura de las vellosidades correspondió del inicio de la cripta (apertura de la cripta) hasta la punta de la vellosidad (ápice), el ancho de la vellosidad se midió en la parte media de la longitud de la misma, la profundidad de la cripta correspondió de su base a su apertura, tanto en la vellosidad como en la cripta se marcó el perímetro, con esto el software AnaliSIS™ calculó el perímetro y área. Para cada uno de las muestras tomaron 10 observaciones, mismas que se promediaron para formar la medición por muestra.

Retorno a estro

Al momento del destete las cerdas se trasladaron a los corrales de monta, donde recibieron 2 kg de alimento de montas (NRC, 1998) independientemente del tratamiento que recibieron en lactación. Todas las cerdas tuvieron contacto con el semental desde el día 3 posdestete. La detección de estro se realizó a las 7:00 a.m. y 7:00 p.m., se registraron los días de intervalo destete-estro, las cerdas que presentaron estro se pasaron a jaulas individuales (2.0 m. largo x 0.65 m ancho) donde recibieron 3 servicios (inseminación artificial, a intervalos de 12 horas), iniciando 12 horas después de detectado el estro. Una vez realizada la

inseminación, las cerdas se alimentaron con 2.2 Kg de alimento de gestación, dividido en 2 comidas (7:00 y 15:00 horas).

Diagnóstico de gestación

Al día 30 de gestación (calculado a partir de la última inseminación), se realizó el diagnóstico de gestación por medio de ultrasonografía de tiempo real (técnica trans-abdominal), con un transductor convexo, a una frecuencia de 3.5 MHz.

FASE 2

Animales

Se utilizaron 381 lechones (cruza Landrace x Duroc) de 27 ± 3.3 días de edad y un peso de 8.8 ± 0.5 kg, correspondientes a 4 grupos de pariciones. La cantidad de lechones para cada uno de los tratamientos no fue similar (96, 114, 84 y 87, para las dietas Control, Control + *Bacillus licheniformis* y *Bacillus subtilis*, Control + *Saccharomyces cerevisiae* y Control + *Saccharomyces cerevisiae* + *Bacillus licheniformis* y *Bacillus subtilis*, respectivamente), debido a la disponibilidad de lechones para cada tratamiento en los grupos de parición. Además, los lechones con pesos menores a 2.5 desviaciones de la media de cada tratamiento, no fueron utilizados en esta fase 2, con el fin de mantener unidades experimentales homogéneas. Los lechones se alojaron en corrales elevados con piso de malla de acero, de 4 a 6 lechones por corral dependiendo de la disponibilidad de lechones de cada grupo, tratando de mantener siempre un número similar de lechones por corral entre las unidades experimentales de cada bloque.

En la sala de destete, los lechones recibieron las mismas condiciones de manejo y clima. La sala de destete cuenta con calefacción y ventilación asistida, la temperatura durante la primera semana se mantuvo entre 27-28 °C, en el transcurso de las 3 semanas siguientes, cada 4 días se descendió un grado centígrado, para terminar el periodo de destete con una temperatura entre 21-22

°C. Cada corral tenía un bebedero de chupón y un comedero con 6 bocas, se permitió el consumo de alimento y agua a libre acceso.

Fases de alimentación

Los cerdos permanecieron en la sala de destete 28 días, durante este tiempo se utilizaron 3 fases de alimentación (formuladas para satisfacer los requerimientos de los lechones; NRC, 1998), y en cada fase se incluyeron las cuatro dietas experimentales:

Fase 1: Se ofreció los primeros 7 días de permanencia en la sala de destete, los lechones fueron alimentados cuatro veces al día (8:00, 12:00, 16:00 y 20:00 horas) con una de las cuatro dietas experimentales correspondientes.

Fase 2: Esta fase se utilizó del día 8 al 21 de estancia en la sala de destete. Las dietas experimentales fueron ofrecidas tres veces al día (8:00, 14:00 y 20:00 horas).

Fase 3: Se utilizó durante los últimos 7 días de estancia en la sala de destete (del día 22 al 28), las dietas experimentales fueron ofrecidas 2 veces durante el día (8:00 y 18:00 horas).

Dietas experimentales

Como se mencionó anteriormente, para éste experimento se utilizaron cuatro dietas en cada fase de alimentación del destete (Cuadros 4 al 6). Basadas en sorgo y soya, formuladas para satisfacer las necesidades nutricionales de los cerdos destetados (NRC, 1998). Las dietas experimentales para cada fase de alimentación fueron; Una dietas control (Control), la cual no incluían antibiótico y ningún probiótico; la segunda dieta, similar a la Control más la levadura *Saccharomyces cerevisiae* (3.5×10^{13} UFC/ tonelada); La tercer dieta, igual a la Control más la adición con las bacterias *Bacillus Licheniformis* y *Bacillus subtilis* (1.1×10^{12} UFC/ tonelada); la cuarta dieta, similar a la dieta Control mas la inclusión de la combinación de *Saccharomyces cerevisiae* (3.5×10^{13} UFC/ tonelada), *Bacillus Licheniformis* y *Bacillus subtilis* (1.1×10^{12} UFC/ tonelada). Las

dietas se asignaron a los lechones dando seguimiento a las dietas que recibieron las madres durante la lactación.

Diseño experimental

Se utilizó un diseño experimental de bloques completos al azar con un arreglo factorial 2X2, donde los factores fueron los probióticos; 1) *Saccharomyces cerevisiae*, 2) *Bacillus licheniformis* y *Bacillus subtilis*, los niveles de los factores fueron: presencia (1) o ausencia (0) de ellos. El bloque fue el grupo de destete al que pertenecían y la unidad experimental fue el corral.

Variables de respuesta

Consumo de alimento

Se llevó un registro del consumo diario de alimento de los lechones por corral, así como del rechazo. Al inicio de la fase 1 de destete se ofrecieron 100 grs. de alimento por animal por día a cada corral, misma que se dividió en 4 servidas al día (8:00, 12:00, 16:00, 20:00). La cantidad de alimento ofrecido, se aumentó en 50 gramos por animal, cada vez que los cerdos consumieron todo el alimento del comedero, se procuró tener siempre un remanente de alimento para evitar restringir a los animales.

Ganancia de peso

Los lechones fueron pesados los días 0, 7, 14, 21 y 28 del experimento. Dividiendo la diferencia del peso al inicio y al final de cada etapa entre el número de días de la etapa se calculó la ganancia de peso por corral por fase de alimentación y acumulada.

Eficiencia alimenticia

La eficiencia alimenticia se calculó al dividir la ganancia de peso del corral entre el consumo de alimento durante cada una de las fases de alimentación y el acumulado del periodo de destete.

Características de las heces

Se registraron las características de las heces por corral durante todos los días de estancia en la sala de destete, de manera similar a lo descrito anteriormente para la fase 1 de investigación (Kyriakis et al., 1999). Además, se llevó el registro de la presencia o ausencia (1 y 0, respectivamente) de diarrea por corral por día.

ANÁLISIS DE LOS DATOS

Para las variables productivas (fase 1 y 2) se utilizaron los procedimientos lineales generales (GLM) del paquete estadístico SAS, y para las variables características de las heces y diagnóstico de gestación se usó Chi-cuadrada. Para las variables características de heces y presencia o ausencia de diarreas se realizaron las siguientes comparaciones; entre los cuatro tratamientos, control contra cada uno de los tratamientos que contenían los probióticos (*Saccharomyces cerevisiae*, *Bacillus licheniformis*-*B. subtilis* y la combinación *Saccharomyces cerevisiae*, *Bacillus licheniformis*-*B. subtilis*) y entre los tratamientos que contenían los probióticos.

6.0 RESULTADOS

Comportamiento productivo y reproductivo de las cerdas

En este trabajo, no se encontraron diferencias ($P > 0.05$) en el consumo promedio de alimento y cambio de peso de las cerdas durante la lactación (Cuadro 7). Contrario a lo que comúnmente se observa durante este período, las cerdas ganaron peso en lugar de perderlo, de hecho el incremento de peso promedio de las cerdas durante la lactación fue de $7.6 \text{ kg} \pm 1.26$. El cambio en masa grasa y proteica corporal en las cerdas durante la lactación no fue diferente ($P > 0.05$) entre tratamientos, de igual forma que para la variable anterior, la cerdas ganaron grasa y proteína durante la lactación (0.59 y 1.50 kg, respectivamente).

En cuanto a las variables de respuesta: peso inicial de la camada, peso de la camada al destete, ganancia de peso de la camada durante la lactancia, peso de los lechones al destete, ganancia diaria de peso de los lechones y el porcentaje de mortalidad, no fueron afectadas por los tratamientos ($P > 0.05$; Cuadro 8). Sin embargo, se observó interacción ($P < 0.05$) levadura-bacterias en el número de lechones destetados (9.3ab, 9.7b, 9.5ab y 9.2a, control, bacterias, levadura y levadura+bacterias, respectivamente), donde las cerdas que consumieron la combinación de *Saccharomyces cerevisiae*, *Bacillus licheniformis* y *Bacillus subtilis* destetaron un menor número de lechones que las cerdas que recibieron solo *Bacillus licheniformis* y *Bacillus subtilis*.

Las frecuencias en las características de las heces de los lechones durante la lactación, no fueron diferentes entre los tratamientos (Cuadro 9; $P > 0.05$). Pero si se encontraron diferencias (Cuadro 10; $P < 0.05$) en la presencia de diarrea entre los tratamientos (224, 190, 193 y 169, frecuencia de diarrea para control, bacterias, levadura y levadura+bacterias, respectivamente). Las camadas de las cerdas que recibieron los probióticos *Bacillus licheniformis*-*Bacillus subtilis* y la combinación *Saccharomyces cerevisiae* y *Bacillus licheniformis*-*Bacillus subtilis* en el alimento, tuvieron una menor frecuencia de diarrea que los lechones de las cerdas alimentadas con la dieta control, sin que existiera diferencia en la

ocurrencia de diarreas entre las camadas de las cerdas que recibieron las dietas que contenían los probióticos ($P > 0.05$).

Al estimar la producción de leche en las cerdas durante la lactación (Cuadro 11) no se encontraron diferencias entre los tratamientos ($P > 0.05$). En el porcentaje de grasa en el calostro se observó una interacción levadura-bacterias ($P < 0.05$), las cerdas que consumieron la combinación de *Saccharomyces cerevisiae* y *Bacillus licheniformis*-*Bacillus subtilis* tuvieron un porcentaje de grasa menor en el calostro que las cerdas que consumieron la dieta control y las que contenían *Bacillus licheniformis*-*Bacillus subtilis* o *Saccharomyces cerevisiae* (5.5b, 5.6b, 5.4b, 4.4a %). No obstante, en lo que se refiere al porcentaje de grasa en leche al día 7 y 14 de lactación, no se encontraron diferencias ($P < 0.05$) entre los tratamientos.

No se observaron diferencias ($P > 0.05$) en el intervalo destete-estro (7.1, 7.5, 7.8 y 8.3 días, control, bacterias, levadura y levadura-bacterias respectivamente), ni en las frecuencias de cerdas gestantes y no gestantes. (Cuadros 7 y 18).

Al analizar la morfología del intestino delgado (duodeno, yeyuno e íleon) en el día del nacimiento (día 0) de los lechones (Cuadros 12 y 13), no se encontraron diferencias entre los tratamientos ($P > 0.05$). Para el día 14 de edad de los lechones (Cuadros 14 y 15), se observó un efecto mayor de levadura ($P < 0.05$) en la variable ancho de la vellosidades del yeyuno, donde las vellosidades de lechones provenientes de camadas donde las cerdas fueron alimentadas con las dietas que contenían levadura fueron más anchas que las de los lechones donde sus madres no recibieron la levadura (71.9 vs 62.4 μm , respectivamente). Además, se encontró un efecto mayor de bacterias ($P < 0.05$) en las variables, profundidad de la cripta del duodeno (84.2 vs 116.4 μm , con bacterias y sin bacterias respectivamente), área de la cripta del duodeno (3820.5 vs 6112.5 μm^2) e íleon (3584 vs 5377.5 μm^2), perímetro de la cripta en duodeno (217.4 vs 325.7 μm) e íleon (216.5 vs 269.6 μm), y una tendencia al efecto mayor de bacterias en

la relación vellosidad/cripta del íleon ($P = 0.052$; 4.67 vs 3.26 $\mu\text{m}/\mu\text{m}$, con bacterias y sin bacterias respectivamente).

Al momento del destete (Cuadros 16 y 17) se observó interacción levadura-bacterias ($P < 0.05$) para las variables, peso del intestino vacío, peso relativo del intestino, largo del intestino, altura de las vellosidad del íleon, ancho del yeyuno, perímetro del íleon, área de la cripta del duodeno, perímetro de la cripta del duodeno y la relación vellosidad/cripta del íleon, donde el peso relativo del intestino (32.3a, 26.2b, 27.8b, 28.4b g/kg, control, bacterias, levadura y levadura+bacteria, respectivamente), peso del intestino vacío (179a, 148b, 152b, 166ab g, respectivamente), largo del intestino (7.88a, 6.34b, 6.06b, 6.54b m), área (7142a, 5117b, 5049b, 5196b μm^2) y perímetro de la cripta del duodeno (347.1a, 287.4b, 280.6b, 294.9b μm) fueron mayores en los lechones de las cerdas que consumieron las dietas que no contenían probiótico, en relación con los de las cerdas que consumieron las dietas con alguno de los dos probióticos o su combinación. El ancho de las vellosidades del yeyuno (63.7a, 77.3b, 73.2ab, 69.3ab μm), altura (146.2a, 287.2b, 215.0ab, 211.5ab μm) y perímetro (425.0a, 745.4b, 583.6ab, 576.8ab μm) de la vellosidad del íleon y la relación vellosidad/cripta del íleon (1.23a, 3.64b, 2.20a, 2.13a $\mu\text{m}/\mu\text{m}$) fueron menores en los lechones de las cerdas que no tuvieron ningún probiótico en la dieta, con respecto a los lechones de las cerdas que consumieron la dieta solo con bacterias. Además, se observó un efecto mayor de levadura ($P < 0.05$) en la variable ancho de la vellosidad del duodeno, donde las vellosidades del duodeno fueron más anchas con la presencia de levadura que sin la presencia de levaduras (75.55 vs 66.1 μm).

Los efectos mayores de bacterias se presentaron en las variables profundidad de cripta del íleon (91.7 vs 109.2 μm , con bacterias y sin bacterias respectivamente), perímetro de la cripta del íleon (247.2 vs 287.3 μm , con bacteria y sin bacterias respectivamente) y una tendencia ($P = 0.051$) a ser más anchas las vellosidades del íleon con la presencia de bacterias (71.3 vs 65.1 μm).

Comportamiento productivo de los lechones posdestete

En el comportamiento productivo de los lechones posdestete, se observó un efecto mayor de bacterias ($P < 0.05$; Cuadro 19), en el consumo diario de alimento (528 vs 506 g, con bacterias y sin bacterias respectivamente) y la ganancia diaria de peso del lechón (323 vs 304 g, con bacterias y sin bacterias respectivamente). También se observó una interacción ($P = 0.05$) levadura-bacterias en la eficiencia alimenticia (EA), donde la EA de los lechones que no consumieron ningún probiótico fue menor que los lechones que consumieron los probióticos por separado y combinados (0.594a, 0.615b, 0.612b y 0.613b g/g, para las dieta control, bacterias, levaduras y levadura-bacteria respectivamente).

Al igual que durante el período de lactancia, la frecuencia en la presentación de diarrea en los lechones que no consumieron las dietas que contenían los probióticos fue mayor ($P < 0.01$; Cuadro 20 y 21) a la de los cerdos que consumieron las dietas que contenían los probióticos. Sin que hubiese diferencias ($P > 0.05$) en la frecuencia de diarreas de los cerdos que consumieron las dietas que contenían los probióticos.

7.0 DISCUSIÓN:

FASE 1:

En el presente experimento no se encontraron diferencias en el comportamiento productivo de las cerdas en lactación por efecto de la adición de los probióticos a la dieta. Es importante resaltar que las cerdas no perdieron peso durante la lactación, sino que ganaron (7.6 kg, promedio), para poder explicar la ganancia de peso de las cerdas durante la lactación, se calcularon las necesidades de energía metabolizable de las cerdas para la producción de leche (Noblet y Etienne, 1987) y de mantenimiento (NRC, 1998). La suma de las necesidades de energía metabolizable (mantenimiento y producción de leche) de las cerdas utilizadas en este experimento, fue confrontada con el consumo diario de energía metabolizable (Consumo diario de alimento multiplicado por la energía que contiene el mismo), observamos que el consumo diario de energía excedió a las necesidades de energía de las cerdas en lactación, por lo cual, las cerdas ganaron peso durante la lactación. Entonces, la baja producción de leche (promedio 6.2 kg/día) de las cerdas utilizadas en el experimento ocasionó un balance energético positivo durante la lactación. La energía en el organismo es depositada como proteína, grasa y una pequeña cantidad en forma de glucógeno (van Milgen y Noblet, 2003), es por eso que en este experimento el exceso de energía consumida por las cerdas se reflejó en la ganancia de grasa (0.59 kg) y proteína (1.5 kg) corporal durante la lactación.

Al ganar peso (7.6 kg) las cerdas durante la lactación impidió encontrar diferencias en el intervalo destete-estro y preñez, debido a que las fallas reproductivas en las cerdas posdestete se han observado cuando las cerdas pierden 11 % o más de proteína corporal (Quesnel *et al.*, 2005;) o más del 15 % de peso corporal (Koketsu *et al.*, 1996) durante la lactación.

Veum *et al.* (1995), Jurgens *et al.* (1997), Pérez *et al.* (2001), Zapata *et al.* (2002) y Zerrahn (2007), no encontraron diferencias en el consumo diario de alimento y pérdida de peso de la cerda durante la lactación por efecto de la adición de *Saccharomyces cerevisiae* y *Bacillus licheniformis* y *Bacillus subtilis*,

respectivamente. De los trabajos anteriores, solo los de Veum *et al.* (1995) y Pérez *et al.* (2001) pueden ser comparados con los resultados del presente trabajo, ya que la duración de lactación fueron similares a los de este experimento (21 y 24 días, respectivamente). El consumo diario de alimento en los experimento de Veum *et al.* (1995) y Pérez *et al.* (2001) son similares a los observados en nuestro trabajo (5.9, 5.2 y 5.4 kg, respectivamente).

La leche de la cerda es la principal fuente de nutrientes para su camada durante la lactación. Por lo que la ganancia diaria de peso de la camada va a estar directamente relacionada no solo con la capacidad de producción, sino que también con la composición de leche de la cerda (Mavromichalis, 2006). Al no encontrar diferencias en la ganancia diaria de peso de los lechones en el trabajo y ser ésta una variable independiente en la ecuación utilizada para predecir la producción diaria de leche, por tanto no se encontraron diferencias en la producción de leche entre los tratamientos. Como se mencionó anteriormente, las cerdas utilizadas en el experimento tuvieron una producción baja de leche (6.2 kg), los nutrientes consumidos por las cerdas no fueron una limitante para la síntesis de leche, ya que estas cerdas ganaron peso durante la lactación (7.6 kg), lo que hace suponer que éstas cerdas tienen un potencial genético reducido para la producción de leche. El porcentaje de grasa en leche (día 7 y 14) no mostró diferencias con la inclusión de los probióticos, lo que concuerda con lo reportado por Jurgens *et al.* (1997), Pérez *et al.* (2001), Zapata *et al.* (2002) al usar *Saccharomyces cerevisiae* en la dieta de cerdas en lactación. Sin embargo, en contraste con lo observado en el presente trabajo, Alexopoulos *et al.* (2004), reportaron que la inclusión de *Bacillus licheniformis* y *Bacillus subtilis* en la dieta de cerdas en lactación incrementó la cantidad de grasa en leche al día 14 de lactación. Estos investigadores atribuyen el incremento en la cantidad de grasa en leche, a la mayor concentración de lípidos totales y colesterol encontrado en suero de las cerdas que consumieron *Bacillus licheniformis* y *Bacillus subtilis*, esto último ocasionado por el incremento en el consumo de alimento durante la lactación. En el presente trabajo, no se encontraron diferencias en el consumo de alimento, y

aunque no se evaluó la concentración de lípidos totales y colesterol en suero, la similitud encontrada en el consumo diario de alimento, pudiera explicar el que la cantidad de grasa en leche no haya sido diferente.

En otros trabajos, la producción diaria de leche estimada se encuentra entre 8.05 y 10 kg/día (Torner *et al.*, 1996; Spencer *et al.*, 2003, respectivamente) para cerdas primíparas y multíparas, con lactaciones de 21 y 19 días, respectivamente. Es decir, que hay una diferencia de casi 2 a 4 kg en la producción de leche por día entre los trabajos anteriores y el presente, lo que probablemente se reflejó en la baja ganancia diaria de peso de los lechones (211 g, promedio) en este experimento, mientras en el trabajo de Spencer *et al.* (2003) la ganancia diaria de peso de los lechones fue de 315 g.

La inclusión de *Saccharomyces cerevisiae*, *Bacillus subtilis* y *Bacillus licheniformis* y su combinación no tuvieron efecto sobre el peso de la camada al destete, ganancia de peso de la camada, peso del lechón al destete, ganancia diaria del lechón. Veum *et al.* (1995), reporta resultados similares a los de este experimento en; peso de la camada al destete (51.3 kg), peso del lechón al destete (6.0 kg) y ganancia diaria de peso de los lechones (203, g), con el uso de cultivo de *Saccharomyces cerevisiae*. Jurgens *et al.* (1997) y Zerrahn (2007) tampoco encontraron diferencias en el comportamiento productivo de la camada con la adición de *Saccharomyces cerevisiae* y *Bacillus licheniformis*-*Bacillus subtilis* en la dieta de las cerdas durante la lactación, sin embargo, sus resultados no pueden ser confrontados con los nuestros ya que ellos utilizaron creep feeding y la duración de la lactación fue mayor (28 días). Contrario a lo anterior, Castellanos *et al.* (2007), encontraron interacción *Saccharomyces cerevisiae* y *Bacillus licheniformis*-*Bacillus subtilis* ($P < 0.10$) en el peso de la camada al destete y el peso de los lechones al destete, los cuales fueron mayores en las cerdas que consumieron *Saccharomyces cerevisiae* y *Bacillus licheniformis*-*B. subtilis*, esto atribuido al mayor consumo de alimento y producción de leche.

Las cerdas que recibieron la dieta con La combinación de *Saccharomyces cerevisiae* y *Bacillus licheniformis*-*Bacillus subtilis* destetaron una menor cantidad

de lechones, probablemente debido al menor porcentaje de grasa que tuvieron en el calostro (4.4%), por lo tanto podemos presumir que sus lechones consumieron una menor cantidad de energía al inicio de la lactancia, ya que al tener una menor cantidad de grasa en el calostro la cantidad de energía se vería reducida. Algunos autores han reportado que un bajo consumo de energía por parte de los lechones, parece ser la mayor causa de mortalidad pre-destete (Pettigrew, 1981; Chiang *et al.*, 1990). Aún cuando la disminución del contenido de grasa no se presentó para el día 7 y 14 de lactación, el bajo consumo de energía al inicio de la lactancia de estos lechones (por disminución del porcentaje de grasa), pudo afectar la sobrevivencia de los lechones durante el transcurso de la lactancia.

La menor incidencia de diarrea en las camadas de las cerdas que recibieron los probióticos, coincide con lo observado por Alexopoulos *et al.* (2004) y Taras *et al.* (2005), quienes también reportan una menor incidencia de diarreas en las camadas de las cerdas que consumieron dietas que contenían *Bacillus licheniformis*-*Bacillus subtilis* y *Bacillus cereus* var. Toyoi durante la lactación, respectivamente.

En el presente estudio, al día 14 de edad, en los lechones provenientes de cerdas que recibieron la levadura, el ancho de las vellosidades a nivel del yeyuno fue mayor. De acuerdo al desarrollo temporal de la mucosa del intestino en lechones (Skrzypek *et al.*, 2005, 2007), sugiere que las vellosidades del yeyuno de los lechones provenientes de cerdas que consumieron levadura comenzaron su maduración antes que los lechones que no consumieron levadura. La profundidad de la cripta y la altura de la vellosidad del intestino delgado nos da una idea de la proliferación celular (cripta) y exfoliación o pérdida de enterocitos en la mucosa (Shirkey *et al.*, 2006). Los lechones de camadas cuyas madres consumieron la dieta con el probiótico de bacterias, tuvieron criptas menos profundas en el duodeno y menor área y perímetro de las criptas del duodeno e íleon. Esto pudiera ser un indicativo de que estos lechones tuvieron una pérdida o exfoliación de enterocitos menor que la de los lechones que sus madres no consumieron las

bacterias, ya que con una menor profundidad en las criptas del duodeno mantuvieron una altura de vellosidades similar a los lechones de madres que no consumieron el probiótico bacteria. Si se tiene una menor proliferación celular en el intestino el gasto energético del mismo disminuye, por tanto favorecería una mayor distribución de nutrientes para la ganancia de peso de los lechones (Pekas y Wray, 1991). Sin embargo, el peso de las camadas de madres que consumieron las bacterias fue similar a las camadas que no consumieron las bacterias. Debido a esta menor profundidad de criptas, cuando se analizó la relación vellosidad/cripta del íleon se encontró una tendencia ($P= 0.052$) de efecto mayor de bacterias.

Cuando la superficie de contacto de mucosa del intestino delgado hacia el lumen se ve reducida, se ha observado que el intestino delgado crece el plano horizontal (largo del intestino). Esta respuesta adaptativa se ha reportado en ratas que se han sometido a una resección intestinal masiva (O'Brien *et al.*, 2001; Juno *et al.*, 2004), en lechones durante el periodo de destete (Vente-Spreewenberg *et al.*, 2003), y en lechones colonizados por bacterias convencionales comparada con lechones colonizados solo con *Lactobacillus fermentum* (Shirkey *et al.*, 2006).

El incremento en el peso del intestino vacío, peso relativo del intestino (g/kg) y largo del intestino, que mostraron al destete los lechones provenientes de las cerdas que no recibieron ningún probiótico, puede ser debido a una respuesta de adaptación del intestino delgado al tener menor altura en las vellosidades del íleon, vellosidades menos anchas en duodeno, yeyuno e íleon y un menor perímetro de las vellosidades del íleon en relación con los lechones provenientes de cerdas alimentadas con dietas que recibieron probióticos.

El uso de cualquiera de los probióticos utilizados en el presente trabajo, favorece desarrollo del intestino delgado de los lechones durante la lactancia, reflejado esto en la altura de las vellosidades de íleon y vellosidades más anchas en duodeno, yeyuno e íleon. Además, la disminución de la profundidad de criptas y perímetro de duodeno e íleon. Lo que nos sugiere una menor proliferación celular para poder mantener el largo de las vellosidades. Aún cuando el desarrollo

de la mucosa intestinal expresado en los lechones procedentes de cerdas que recibieron los probióticos, no se manifestó en una mejora del comportamiento productivo de la camada durante la lactancia, estos lechones están mejor preparados para afrontar el destete, donde se podrá expresar en un incremento del comportamiento productivo. Con los resultados obtenidos en este trabajo, no se cuentan con elementos suficientes para explicar el mecanismo por el cual los probióticos favorecieron el desarrollo del intestino en lechones durante la lactancia, por lo que se requiere investigación donde se integren las modificaciones que ocasionan los probióticos en la microbiota intestinal y el efecto de ésta sobre la mucosa intestinal, así como la interacción de los probióticos con la mucosa intestinal.

Sin embargo, Samanya *et al.* (2002), sugieren que la disminución en la concentración de amonio en la sangre de pollos que fueron alimentados con *Bacillus subtilis*, es la causa de las mejoras encontradas en la morfología intestinal. Lo anterior debido a que, se ha reportado que el amonio es tóxico para la mucosa gástrica, y reduce la síntesis de DNA (Warzecha *et al.*, 2000). Santón *et al.* (2001), mencionan que el mayor tamaño de las vellosidades intestinales de los pollos alimentados con dietas que contenían paredes celulares de *Saccharomyces cerevisiae*, puede deberse a un incremento en la salud intestinal, misma que se vio reflejada en el comportamiento productivo de los pollos.

Fase 2

En el presente trabajo, la menor frecuencia de diarreas y mayor frecuencia de heces normales corresponden con el incremento en el comportamiento productivo de los lechones que consumieron los probióticos. Marubashi *et al.* (1999) y Alexopoulos *et al.* (2004) también encontraron un incremento en la ganancia diaria de peso y eficiencia alimenticia en lechones durante la fase de destete por efecto de *Bacillus licheniformis* y *Bacillus subtilis*. La ganancia diaria de peso en los lechones que consumieron en la dieta *Bacillus licheniformis* y *B. subtilis* en el trabajo de Alexopoulos *et al.* (2004) fue de 6.9% mayor al control,

mientras en el presente trabajo el incremento fue de 6.2%. Ragland *et al.* (2006) observaron que los lechones ganaron 5.0 % más peso y consumieron 6.4 % más alimento cuando se usó *Bacillus licheniformis* y *Bacillus subtilis* en la dieta de lechones durante la fase de destete. En el presente experimento, el consumo de alimento con el uso de *Bacillus licheniformis* y *Bacillus subtilis* se incrementó en 4.3%. Taras *et al.* (2005) observaron un incremento de 8.2% en la eficiencia alimenticia con el uso de *Bacillus cereus* var. Toyoi, en el presente trabajo el incremento en la eficiencia alimenticia en los lechones que consumieron *Bacillus licheniformis* y *Bacillus subtilis* fue de 3.3%. Jurgens *et al.* (1997) reportaron un incremento del 4.5% en la eficiencia alimenticia con el uso de *Saccharomyces cerevisiae*, mientras en este experimento los lechones que consumieron *Saccharomyces cerevisiae* incrementaron la eficiencia alimenticia en 3.1%. Por tanto, los resultados observados en nuestro trabajo están en acorde con lo reportado en la literatura.

8.0 CONCLUSIONES

En las condiciones del presente experimento, la adición tanto de *Saccharomyces cerevisiae*, como de *Bacillus licheniformis-Bacillus subtilis*, o su combinación, en la dieta de cerdas en lactación, no modificó el consumo voluntario de alimento, pérdida de peso de cerda, pérdida de grasa y proteína corporal, el intervalo destete-estro y tasa de gestación posdestete.

La adición tanto de *Saccharomyces cerevisiae*, como de *Bacillus licheniformis-Bacillus subtilis*, o su combinación, en la dieta de cerdas en lactación, disminuye la frecuencia de diarrea en la camada, y favorece el desarrollo de la mucosa intestinal de los lechones durante la lactancia.

La continuación de la adición de *Bacillus licheniformis-Bacillus subtilis*, *Saccharomyces cerevisiae* o su combinación en la dieta de lechones durante las diferentes fases de alimentación en el destete mejora el comportamiento productivo de los cerdos y disminuye la frecuencia y severidad de las diarreas.

9.0 ANEXOS

Cuadro 1: Comparación de la composición de calostro y leche de cerda

Componentes	Calostro	Leche
Materia seca (%)	25	19.8
Grasa (%)	7.1	8.5
Proteína (%)	13.5	5.4
Caseína (%)	2.5	3.0
Proteína sérica (%)	9.5	2.7
IgA (mg/ml)	11.9	6.1
IgG (mg/ml)	45.6	1.0
IgM (mg/ml)	5.2	1.6
Lactosa (%)	4.0	5.6

(Adaptado de Klobasa et al., 1987; Csapó et al., 1996)

Cuadro 2: Cambios en la composición química de calostro y leche de cerda durante la lactación. Simplifica el cuadro, si alguien quiere verlo completo que vaya a la fuente original. También dale un formato sencillo, que no ocupe más espacio que el permitido.

Estado de lactación	Sólidos Totales (%)	Grasa (%)	Lactosa (%)	Proteína Total (%)
0 h	25.6	5.0	3.1	15.7
6 h	22.7	4.8	3.4	13.0
12 h	18.4	4.9	4.1	8.8
18 h	17.7	5.2	4.4	7.3
24 h	17.3	5.6	4.6	6.4
48 h	18.6	6.5	4.8	6.4
72 h	19.0	6.7	5.2	6.1
5 d	18.4	6.5	5.5	5.5
7 d	18.3	6.7	5.6	5.4
14 d	18.2	6.4	5.9	5.1
21 d	18.7	6.6	5.8	5.2
28 d	18.1	6.1	5.8	5.4

Adaptada de Klobasa et al. (1987)

Cuadro 3: Dietas de lactación

Ingredientes	Control	Levadura	Bacterias	Levadura+bacterias
Sorgo	58.278	57.978	58.228	57.928
Soya, pasta 46%	23.080	23.080	23.080	23.080
Azúcar	5.000	5.000	5.000	5.000
Sebo	4.680	4.680	4.680	4.680
Melaza	3.000	3.000	3.000	3.000
Ortofosfato	1.960	1.960	1.960	1.960
Canola, pasta-36	1.840	1.840	1.840	1.840
Calcio-carbonato	0.760	0.760	0.760	0.760
Sal, NaCl-I	0.400	0.400	0.400	0.400
Vitaminas pmx u-058	0.300	0.300	0.300	0.300
L-lisina.HCL	0.222	0.222	0.222	0.222
Vitaminas pmx u-059	0.200	0.200	0.200	0.200
L-treonina	0.155	0.155	0.155	0.155
Minerales pmx u-060	0.080	0.080	0.080	0.080
DL-metionina	0.045	0.045	0.045	0.045
Procreatin-7	0.000	0.300	0.000	0.300
Bioplus 2B	0.000	0.000	0.050	0.050
Total	100.0	100.0	100.0	100.0

Análisis de la dieta Control: 3.3 Mcal/kg de EM, 17% proteína cruda, 1.15 % de lisina total, 0.745 % de treonina, 0.165% de triptofano, 0.304 % de metionina, 0.746 % calcio y 0.670 % fósforo total. La inclusión de los probióticos fue en sustitución de la misma cantidad de sorgo.

Minerales pmx u-060: Azufre 13.62%, Cobalto 600 ppm, Cobre 12000 ppm, Hierro 100000ppm, Manganeso 30000 ppm, Selenio 250 ppm, Yodo 800 ppm, Zinc 120000 ppm, Cloro 6.87 %.

Vitaminas pmx u-058: Vitamina A 500 UI/g, Vitamina D 50 UI/g, Vitamina E 7.5 UI/g, Colina 338480 ppm, Tiamina 248.4 ppm, Piridoxina 258.3 ppm, Biotina 62.55 ppm, Ácido Fólico 624 ppm, Cloro 9.91%.

Vitaminas pmx u-0.59: Vitamina A 4000 UI/g, Vitamina D 800 UI/g, Vitamina E 20 UI/g, Vitamina K 500.25 ppm, Riboflavina 3000 ppm, Cianocobalamina 16 ppm, Colina 234333 ppm, Niacina 15000 ppm, Ácido pantoténico 6897.84 ppm.

Cuadro 4: Dieta lechones destetados fase 1

Ingredientes	Control	Levadura	Bacterias	Levadura+Bacterias
Sorgo	39.520	39.220	39.470	39.170
Suero de leche	27.000	27.000	27.000	27.000
Soya, pasta 46%	19.000	19.000	19.000	19.000
Sebo	6.300	6.300	6.300	6.300
Plasma ADH	4.000	4.000	4.000	4.000
Ortofosfato	1.270	1.270	1.270	1.270
Carbonato de calcio	0.570	0.570	0.570	0.570
L-lisina	0.570	0.570	0.570	0.570
Sal	0.400	0.400	0.400	0.400
Óxido de zinc	0.400	0.400	0.400	0.400
Vitaminas pmx u-058	0.240	0.240	0.240	0.240
L-treonina	0.220	0.220	0.220	0.220
Vitaminas pmx u-059	0.200	0.200	0.200	0.200
DL-metionina	0.190	0.190	0.190	0.190
Minerales pmx u-060	0.120	0.120	0.120	0.120
Procreatin 7	0.00	0.300	0.00	0.300
Bioplus 2b	0.00	0.00	0.050	0.050
Total	100.00	100.00	100.00	100.00

Análisis de la dieta control: 3.4 Mcal/kg EM, 16.9% proteína digestible, 1.4 % lisina digestible, 0.913 % treonina digestible, 0.207 % triptofano digestible, 0.421% metionina digestible, 0.749% calcio, 0.369 % fósforo disponible, 20% lactosa. La inclusión de los probióticos fue en sustitución de la misma cantidad de sorgo.

Minerales pmx u-060: Azufre 13.62%, Cobalto 600 ppm, Cobre 12000 ppm, Hierro 100000ppm, Manganeso 30000 ppm, Selenio 250 ppm, Yodo 800 ppm, Zinc 120000 ppm, Cloro 6.87 %.

Vitaminas pmx u-058: Vitamina A 500 UI/g, Vitamina D 50 UI/g, Vitamina E 7.5 UI/g, Colina 338480 ppm, Tiamina 248.4 ppm, Piridoxina 258.3 ppm, Biotina 62.55 ppm, Ácido Fólico 624 ppm, Cloro 9.91%.

Vitaminas pmx u-0.59: Vitamina A 4000 UI/g, Vitamina D 800 UI/g, Vitamina E 20 UI/g, Vitamina K 500.25 ppm, Riboflavina 3000 ppm, Cianocobalamina 16 ppm, Colina 234333 ppm, Niacina 15000 ppm, Ácido pantoténico 6897.84 ppm.

Cuadro 5: Dieta lechones destetados fase 2

Ingredientes	Control	Levadura	Bacterias	Levadura+Bacterias
Sorgo, grano	54.747	543.97	546.970	543.47
Soya, pasta 46%	22.000	22.000	22.000	22.000
Suero de leche	13.720	13.720	13.720	13.720
Sebo	4.960	4.960	4.960	4.960
Ortofosfato	1.670	1.670	1.670	1.670
Calcio-carbonato	0.700	0.700	0.700	0.700
L-lisina.HCL	0.523	0.523	0.523	0.523
Sal, NaCl-I	0.300	0.300	0.300	0.300
Óxido de zinc	0.300	0.300	0.300	0.300
DL-metionina	0.265	0.265	0.265	0.265
L-treonina	0.255	0.255	0.255	0.255
Vitaminas pmx u-059	0.240	0.240	0.240	0.240
Vitaminas pmx u-058	0.200	0.200	0.200	0.200
Minerales pmx u-060	0.120	0.120	0.120	0.120
Procreatin-7	0.000	0.350	0.000	0.350
Bioplus 2b	0.000	0.000	0.050	0.050
Total	100.00	100.00	100.00	100.00

Análisis de la dieta control: 3.3 Mcal/kg EM, 14.0% proteína digestible, 1.16 % lisina digestible, 0.750 % treonina digestible, 0.173 % triptofano digestible, 0.438% metionina digestible, 0.751% calcio, 0.690 % fósforo total, 10.15% lactosa. La inclusión de los probióticos fue en sustitución de la misma cantidad de sorgo.

Minerales pmx u-060: Azufre 13.62%, Cobalto 600 ppm, Cobre 12000 ppm, Hierro 100000ppm, Manganeso 30000 ppm, Selenio 250 ppm, Yodo 800 ppm, Zinc 120000 ppm, Cloro 6.87 %.

Vitaminas pmx u-058: Vitamina A 500 UI/g, Vitamina D 50 UI/g, Vitamina E 7.5 UI/g, Colina 338480 ppm, Tiamina 248.4 ppm, Piridoxina 258.3 ppm, Biotina 62.55 ppm, Ácido Fólico 624 ppm, Cloro 9.91%.

Vitaminas pmx u-059: Vitamina A 4000 UI/g, Vitamina D 800 UI/g, Vitamina E 20 UI/g, Vitamina K 500.25 ppm, Riboflavina 3000 ppm, Cianocobalamina 16 ppm, Colina 234333 ppm, Niacina 15000 ppm, Ácido pantoténico 6897.84 ppm.

Cuadro 6: Dieta lechones destetados fase 3

Ingredientes	Control	Levadura	Bacterias	LevBac
Sorgo	67.938	675.880	678.880	675.380
Soya, pasta 46%	23.000	23.000	23.000	23.000
Sebo	4.580	4.580	4.580	4.580
Ortofosfato	1.740	1.740	1.740	1.740
Calcio-carbonato	1.010	1.010	1.010	1.010
Sal, NaCl-I	0.400	0.400	0.400	0.400
L-lisina.HCL	0.331	0.331	0.331	0.331
Óxido de zinc	0.300	0.300	0.300	0.300
L-treonina	0.225	0.225	0.225	0.225
Vitaminas pmx u-059	0.200	0.200	0.200	0.200
Minerales pmx u-060	0.200	0.200	0.200	0.200
DL-metionina	0.063	0.063	0.063	0.063
Endox	0.013	0.013	0.013	0.013
Procreatin-7	0.000	0.350	0.000	0.350
Bioplus 2b	0.000	0.000	0.050	0.050
Total	100.00	100.00	100.00	100.00

Análisis calculado de la dieta control: 3.3 Mcal/kg EM, 13.2% proteína digestible, 0.950 % lisina digestible, 0.662 % treonina digestible, 0.166 % triptofano digestible, 0.284% metionina digestible, 0.770% calcio, 0.640 % fósforo total. La inclusión de los probióticos fue en sustitución de la misma cantidad de sorgo.

Minerales pmx u-060: Azufre 13.62%, Cobalto 600 ppm, Cobre 12000 ppm, Hierro 100000ppm, Manganeso 30000 ppm, Selenio 250 ppm, Yodo 800 ppm, Zinc 120000 ppm, Cloro 6.87 %.

Vitaminas pmx u-058: Vitamina A 500 UI/g, Vitamina D 50 UI/g, Vitamina E 7.5 UI/g, Colina 338480 ppm, Tiamina 248.4 ppm, Piridoxina 258.3 ppm, Biotina 62.55 ppm, Ácido Fólico 624 ppm, Cloro 9.91%.

Vitaminas pmx u-0.59: Vitamina A 4000 UI/g, Vitamina D 800 UI/g, Vitamina E 20 UI/g, Vitamina K 500.25 ppm, Riboflavina 3000 ppm, Cianocobalamina 16 ppm, Colina 234333 ppm, Niacina 15000 ppm, Ácido pantoténico 6897.84 ppm.

Cuadro 7. Comportamiento productivo de la cerda durante la lactación

Variable	Levadura		Levadura		EEM	Efecto Levadura	Efecto Bacterias	Interacción LevBac
	0	1	0	1				
Cons. promedio, kg	5.48	5.32	5.53	5.43	0.152	0.371	0.184	0.745
Pérdida de peso, kg	+7.03	+6.43	+7.85	+9.4	1.983	0.223	0.756	0.483
Pérdida de grasa corporal, kg	+0.26	+0.27	+0.80	+1.03	0.614	0.225	0.815	0.830
Pérdida de proteína corporal, kg	+1.47	+1.38	+1.45	+1.76	0.326	0.473	0.665	0.432
Intervalo destete-estro, d	7.1	7.5	7.8	8.3	1.248	0.489	0.692	0.960

Cuadro 8. Comportamiento productivo de la camada durante la lactancia

Variable	Levadura		Levadura		EEM	Efecto Levadura	Efecto Bacterias	Interacción LevBac
	0	1	0	1				
Peso inicial de la camada, kg	15.9	15.8	15.5	15.5	0.41	0.227	0.977	0.840
Lechones recomodados	10.2ab	10.5b	10.4b	10.0a	0.19	0.192	0.502	0.026
Peso de la camada al destete, kg	60.0	61.5	60.4	57.6	3.17	0.252	0.676	0.165
Ganancia de peso de la camada, kg	44.1	45.7	45.0	42.0	3.12	0.342	0.646	0.119
Peso del lechón al destete, kg	6.5	6.4	6.3	6.4	0.30	0.827	0.901	0.136
Ganancia diaria de peso de lech. g	213	211	207	214	6.16	0.879	0.631	0.345
Mortalidad de lechones, % ^x	9.5	6.9	8.1	9.7	1.54	0.803	0.778	0.224
Lechones destetados ^y	9.3ab	9.7b	9.5ab	9.2a	0.15	0.355	0.871	0.027

^x Se utilizó la transformación a logaritmo natural de los datos para ser analizados, debido a que estos no presentaban una distribución normal.

^y Se usó la variable lechones recomodados como covariable para el análisis de lechones destetados.

Cuadro 9. Frecuencia de características de heces de la camada durante la lactancia

Levadura	Bacterias	<u>Características de heces</u>			<i>P</i>
		normal	acuosa	pastosa	
0	0	782	43	181	
0	1	914	41	149	
1	0	812	41	152	
1	1	739	40	129	0.10

Cuadro 10. Frecuencia de diarrea en la camada durante la lactancia

Levadura	Bacterias	<u>Diarrea</u>		<i>P</i>
		sin	con	
0	0	782	224	
0	1	914	190	
1	0	812	193	
1	1	739	169	0.02
0	0	782	224	
0	1	914	190	0.01
0	0	782	224	
1	0	812	193	0.09
0	0	782	224	
1	1	739	169	0.04
0	1	914	190	
1	0	812	193	
1	1	739	169	0.39

Cuadro 11. Estimación de la producción de leche y porcentaje de grasa en calostro y leche de cerda.

Variable	Levadura		Levadura		EEM	Efecto Levadura	Efecto Bacterias	Interacción LevBac
	0	1	0	1				
	Bacterias	Bacterias	Bacterias	Bacterias				
Producción de leche, kg/d	6.2	6.4	6.2	6.0	0.191	0.278	0.892	0.283
Grasa en calostro, % ^a	5.5a	5.6a	5.4a	4.4b	0.274	0.027	0.122	0.030
Grasa en leche día 7, % ^a	7.9	7.7	7.7	7.2	0.326	0.292	0.218	0.854
Grasa en leche día 14, % ^a	6.8	7.2	6.9	6.9	0.324	0.792	0.704	0.401

^a Se utilizó la transformación a logaritmo natural de los datos para ser analizados, debido a que estos no presentaban una distribución normal.

Cuadro 12. Peso corporal, largo y peso relativo del intestino, largo, ancho, área y perímetro de las vellosidades intestinales de lechones al nacimiento (día 0)

Variables	Levadura		Levadura		EEM	Efecto Levadura	Efecto Bacterias	Interacción Levbac
	0	1	0	1				
Peso corporal, kg	0.92	0.89	1.04	1.01	0.122	0.308	0.819	0.978
Peso intestino vacío, g	26.4	25.9	37.9	31.0	6.185	0.194	0.554	0.613
Peso relativo, g/kg	28.29	28.85	35.5	29.33	3.818	0.324	0.469	0.380
Largo de intestino, m	3.10	2.84	3.03	3.10	0.360	0.796	0.791	0.651
Altura de vellosidades								
Duodeno, μm	366.1	373.6	406.7	369.8	34.5	0.573	0.652	0.498
Yeyuno, μm	410.4	401.2	466.2	432.6	36.0	0.243	0.560	0.738
Ileon, μm	284.1	349.4	349.5	315.0	30.2	0.814	0.817	0.070
Ancho de vellosidades								
Duodeno, μm	48.3	43.7	48.1	45.9	4.15	0.814	0.425	0.771
Yeyuno, μm	48.0	48.9	53.6	47.8	4.20	0.597	0.567	0.441
Ileon, μm	47.5	52.7	56.5	50.1	3.75	0.406	0.877	0.139
Área de vellosidades								
Duodeno, μm^2	34602	34067	36189	35185	4991.6	0.781	0.874	0.961
Yeyuno, μm^2	39342	38934	45327	43495	6546.9	0.432	0.866	0.914
Ileon, μm^2	25903	35281	34638	29823	5091.7	0.751	0.659	0.180
Perímetro de vellosidades								
Duodeno, μm	889.4	906.7	975.8	891.9	80.60	0.649	0.672	0.522
Yeyuno, μm	957.7	1052.6	1094.8	1019.8	92.45	0.580	0.915	0.371
Ileon, μm	706.3	844.6	857.9	760.1	68.25	0.628	0.770	0.101

Cuadro 13. Profundidad, área, perímetro de criptas en el intestino delgado y relación vellosidad/cripta en lechones al nacimiento (día 0).

Variables	Levadura		Levadura		EEM	Efecto		Interacción	
	0		1			Levadura	Bacterias	Levbac	
	Bacterias	Bacterias	Bacterias	Bacterias					
Profundidad de criptas									
Duodeno, μm	49.7	46.9	52.2	49.8	5.52	0.614	0.637	0.966	
Yeyuno, μm	38.9	39.5	42.1	41.7	2.17	0.236	0.952	0.804	
Ileon, μm	41.7	43.0	47.4	47.9	4.30	0.232	0.841	0.918	
Área de cripta									
Duodeno, μm^2	2368	2063	2214	2657	333.1	0.517	0.838	0.277	
Yeyuno, μm^2	1683	1710	1765	1910	153.1	0.368	0.582	0.703	
Ileon, μm^2	1921	1957	2314	2131	244.9	0.262	0.767	0.661	
Perímetro de cripta									
Duodeno, μm	154.7	142.2	154.2	147.6	12.82	0.850	0.467	0.820	
Yeyuno, μm	125.8	124.6	133.7	132.8	5.01	0.126	0.837	0.980	
Ileon, μm	133.9	136.2	148.0	149.2	8.29	0.120	0.837	0.950	
Relación vellosidad/cripta									
Duodeno, $\mu\text{m}/\mu\text{m}$	7.93	7.85	7.78	7.71	0.593	0.808	0.900	0.992	
Yeyuno, $\mu\text{m}/\mu\text{m}$	10.51	10.11	11.14	10.36	0.746	0.563	0.446	0.803	
Ileon, $\mu\text{m}/\mu\text{m}$	7.00	8.08	7.35	6.72	0.542	0.252	0.882	0.081	

Cuadro 14. Peso corporal, peso de intestino vacío, peso relativo del intestino, largo del intestino, largo, ancho, perímetro y área de las vellosidades intestinales de los lechones lactantes de 14 días de edad.

Variables	Levadura		Levadura		EEM	Efecto Levadura	Efecto Bacterias	Interacción Levbac
	0	1	0	1				
Peso corporal, kg	4.5a	4.3b	4.3b	4.6a	0.084	0.592	0.661	0.003
Peso intestino vacío, g	147.1	137.6	143.3	145.0	7.75	0.804	0.596	0.550
Peso relativo intest. g/kg	33.1	30.1	31.7	32.6	1.55	0.714	0.518	0.229
Largo de intestino, m	6.6	6.0	6.2	6.5	0.241	0.516	0.506	0.129
Altura de vellosidades								
Duodeno, μm	381.5	347.0	354.0	400.8	30.64	0.651	0.831	0.280
Yeyuno, μm	277.5	370.4	332.5	309.5	40.85	0.941	0.379	0.240
Ileon, μm	257.5	314.4	300.1	354.6	40.83	0.284	0.159	0.981
Ancho de vellosidades								
Duodeno, μm	62.7	66.6	74.2	93.2	16.62	0.235	0.468	0.707
Yeyuno, μm	61.3	63.6	74.9	68.9	3.62	0.014	0.594	0.334
Ileon, μm	67.8	69.2	73.4	63.8	4.74	0.981	0.365	0.354
Área de vellosidades								
Duodeno, μm^2	47883	41551	45771	45477	5552.3	0.440	0.126	0.767
Yeyuno, μm^2	31866	38602	43316	32898	6721.3	0.658	0.775	0.289
Ileon, μm^2	31208	38614	39198	37215	5983.7	0.556	0.631	0.526
Perímetro de vellosidades								
Duodeno, μm	943.4	849.5	882.1	848.5	97.59	0.736	0.491	0.797
Yeyuno, μm	714.0	922.0	864.3	804.0	92.36	0.855	0.410	0.230
Ileon, μm	661.3	793.0	785.4	877.9	87.68	0.211	0.186	0.856

Cuadro 15. Profundidad, área, perímetro de criptas en el intestino delgado y relación vellosidad/cripta en lechones lactantes de 14 días de edad.

Variables	Levadura		Levadura		EEM	Efecto Levadura	Efecto Bacterias	Interacción Levbac
	0		1					
	Bacterias 0	Bacterias 1	Bacterias 0	Bacterias 1				
Profundidad de cripta								
Duodeno, μm	125.2	82.5	107.6	86.0	10.73	0.493	0.005	0.418
Yeyuno, μm	99.3	82.3	95.0	101.0	11.41	0.516	0.621	0.398
Ileon, μm	95.4	80.3	96.7	77.4	11.84	0.940	0.136	0.886
Área de cripta								
Duodeno, μm^2	6132	4528	6093	3113	841.1	0.367	0.009	0.500
Yeyuno, μm^2	4912	3795	4755	4129	839.0	0.912	0.288	0.804
Ileon, μm^2	5714	3814	5041	3354	940.9	0.520	0.056	0.926
Perímetro de cripta								
Duodeno, μm	309.9	234.4	341.6	200.5	36.46	0.973	0.005	0.459
Yeyuno, μm	262.2	225.6	255.0	261.3	27.13	0.588	0.562	0.505
Ileon, μm	277.1	220.4	262.2	212.7	26.57	0.650	0.046	0.911
Relación vellosidad/cripta								
Duodeno $\mu\text{m}/\mu\text{m}$	2.97	4.33	3.46	6.06	1.201	0.333	0.094	0.670
Yeyuno, $\mu\text{m}/\mu\text{m}$	3.35	5.37	3.62	3.21	0.796	0.227	0.303	0.210
Ileon, $\mu\text{m}/\mu\text{m}$	3.18	4.34	3.35	5.00	0.725	0.537	0.052	0.783

El peso corporal fue incluido en el modelo como covariable, para las tablas 14 y 15.

Cuadro 16. Peso corporal, peso de intestino vacío, peso relativo y largo del intestino delgado, largo, ancho, perímetro y área de las vellosidades intestinal de los lechones al destete (19 días de edad).

Variables	Levadura		Levadura		EEM	Efecto Levadura	Efecto Bacterias	Interacción Levbac
	0	1	0	1				
	Bacterias 0	Bacterias 1	Bacterias 0	Bacterias 1				
Peso corporal, kg	5.5	5.6	5.5	5.8	0.14	0.450	0.115	0.414
Peso intestino vacío, g	179a	148b	152b	166ab	7.86	0.529	0.359	0.013
Peso relativo, g/ kg	32.3a	26.2b	27.8b	28.4b	1.01	0.225	0.026	0.005
Largo de intestino m.	7.88a	6.34b	6.06b	6.64b	0.36	0.077	0.293	0.012
Altura de vellosidades	295.3	308.3	291.3	306.4	23.77	0.895	0.602	0.965
Duodeno, μm	254.9	283.3	239.4	250.0	29.18	0.375	0.561	0.771
Yeyuno, μm	146.2a	287.2b	215.0ab	211.5ab	26.97	0.892	0.028	0.027
Ancho de vellosidades	60.1	72.1	75.2	75.9	3.18	0.005	0.093	0.101
Duodeno, μm	63.7a	77.3b	73.2ab	69.3ab	3.72	0.820	0.262	0.037
Yeyuno, μm	59.9	72.1	70.3	70.6	2.81	0.112	0.051	0.074
Área de vellosidades	31949	39170	39714	41135	4195.3	0.226	0.370	0.510
Duodeno, μm^2	28534	38838	30827	30873	4562.3	0.510	0.331	0.296
Yeyuno, μm^2	15303	32677	26100	27063	4759.5	0.565	0.087	0.136
Perímetro de vellosidades	760.9	799.8	785.7	806.9	61.31	0.782	0.667	0.889
Duodeno, μm	660.5	759.6	660.4	687.4	72.57	0.597	0.453	0.640
Yeyuno, μm	425.0a	745.4b	583.6ab	576.8ab	64.42	0.934	0.035	0.035
Ileon, μm								

Cuadro 17. Profundidad, área, perímetro de criptas en el intestino delgado y relación vellosidad/cripta en lechones al destete (19 días de edad).

Variables	Levadura		Levadura		EEM	Efecto		Interacción	
	Bacterias		Bacterias			Levadura	Bacterias	Levadura	Levbac
	0	1	0	1					
Profundidad de cripta									
Duodeno, μm	131.0	114.0	109.3	115.7	6.12	0.096	0.449	0.080	
Yeyuno, μm	109.9	108.8	102.5	103.1	8.90	0.440	0.978	0.926	
Ileon, μm	113.3	80.9	105.1	102.6	7.71	0.358	0.048	0.096	
Área de cripta									
Duodeno, μm^2	7142a	5117b	5049b	5196b	400.2	0.014	0.051	0.017	
Yeyuno, μm^2	5266	5059	5054	4687	564.9	0.583	0.659	0.892	
Ileon, μm^2	5768	3629	4559	4837	577.5	0.998	0.146	0.075	
Perímetro de cripta									
Duodeno, μm	347.1a	287.4b	280.6b	294.9b	13.44	0.029	0.149	0.015	
Yeyuno, μm	291.8	282.6	268.0	277.3	22.31	0.490	0.998	0.694	
Ileon, μm	296.9	227.9	277.7	266.5	17.05	0.550	0.041	0.143	
Relación vellosidad/cripta									
Duodeno, $\mu\text{m}/\mu\text{m}$	2.30	2.75	2.65	2.63	0.209	0.544	0.380	0.291	
Yeyuno, $\mu\text{m}/\mu\text{m}$	2.41	2.78	2.41	2.42	0.356	0.599	0.640	0.629	
Ileon, $\mu\text{m}/\mu\text{m}$	1.23a	3.64b	2.20a	2.13a	0.417	0.492	0.018	0.016	

La edad de los lechones fue incluida en el modelo como covariable.

Cuadro 18. Diagnóstico de gestación.

Levadura	Bacterias	Gestante	No gestante	P
0	0	21	4	
0	1	25	3	
1	0	18	3	
1	1	19	2	0.93

Cuadro 19. Comportamiento productivo de lechones posdestete.

Variables	Levadura		Levadura		EEM	Efecto		Interacción	
	Bacterias	Bacterias	Bacterias	Bacterias		Levadura	Bacterias	Levadura	Levbac
	0	0	1	1					
Ganancia diaria de peso, g	299	326	310	321	6.0	0.621	0.001	0.192	
Consumo de alimento, g	505	531	507	525	9.2	0.806	0.016	0.659	
Eficiencia alimenticia g/g	0.594a	0.615b	0.612b	0.613b	0.0052	0.136	0.040	0.050	

El peso inicial del corral fue incluida en el modelo como covariable.

Cuadro 20. Frecuencia de diarrea en los lechones durante la fase de destete.

Levadura	Bacterias	Diarrea		P
		sin	con	
0	0	467	121	
0	1	538	78	
1	0	487	72	
1	1	496	64	0.001
0	0	467	121	
1	0	487	72	0.001
0	0	467	121	
0	1	538	78	0.001
0	0	467	121	
1	1	496	64	0.001
0	1	538	78	
1	0	487	72	
1	1	496	64	0.726

Cuadro 21. Frecuencia de las características de las heces durante la fase de destete.

Levadura	Bacterias	Características de heces			P
		normal	pastosa	acuosa	
0	0	467	35	86	
0	1	538	33	45	
1	0	487	43	29	
1	1	496	39	25	0.001
0	0	467	35	86	
1	0	487	43	29	0.001
0	0	467	35	86	
0	1	538	33	45	0.001
0	0	467	35	86	
1	1	496	39	25	0.001
0	1	538	33	45	
1	0	487	43	29	
1	1	496	39	25	0.127

10.0 REFERENCIAS

Alexopoulos C, Georgoulakis IE, Tzivara A, Kritas SK, Siochu A, Kyriakis SC. Field evaluation of the efficacy of a probiotic containing *Bacillus licheniformis* and *Bacillus subtilis* spores, on the health status and performance of sows and their litters. *J Anim Physiol* 2004; 88:381-392.

Althouse C; Patterson S; Fedorka-Cray P; Isaacson R.E. Type 1 fimbriae of *Salmonella enterica* serovar typhimurium bind to enterocytes and contribute to colonization of swine in vivo. *Infet Immun.* 2003; 71: 6446-6452.

Auldish DE, Carlson D, Morrish L, Wakeford CM, King RH. The influence of suckling interval on milk production of sows. *J Anim Sci* 2000; 78:2026-2031.

Barbosa TM, Serra CR, La Ragione RM, Woodward MJ, Henriques AO. Screening for *Bacillus* isolates in the broilers gastrointestinal tract. *Appl Envir Microbiol* 2005; 71: 968-978.

Berg RD. Mechanism confining indigenous bacteria to gastrointestinal tract. *Am J Clin Nutr* 1980; 33: 2472-2484.

Biagi G, Piva A, Moschini M, Vezzali E, Roth FX. Performance, intestinal microflora, and wall morphology of weaning pigs fed sodium butyrate. *J Anim Sci* 2007; 85:1184-1191.

Butorometría según Gerber, International Organization of Standardization 2446:2008.

Carlisle GE, Falkinham JO. Enzymes activity and antibiotic susceptibility of *Bacillus subtilis* and *Bacillus licheniformis*. *Appl Envir Microbiol* 1989; 55:3026-3028.

Casewell M, Friis C, Marco E, McMullin P, Phillips I. The European ban growth-promoting antibiotics and emerging consequences for human and animal health. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2003; 52:159-161.

Castagliuolo I, Riegler MF, Valenick L, LaMont T, Pothoulakis C. *Saccharomyces boulardii* protease inhibits the effects of *Clostridium difficile* toxin A and B in human colonic mucosa. *Infect Immun* 1999; 67: 302-307.

Castellanos AA, Rentería FJA, Cuarón IJA, Mejía GCA. Efecto de la adición de probióticos en la dieta de cerdas reproductoras sobre la productividad de la cerda y su camada. XIII Congreso Bienal AMENA, 23 al 26 de octubre 2007, Veracruz México. Pág. 261-262.

Casula G, Cutting SM. *Bacillus* Probiotics: Spore germination in the gastrointestinal tract. *Appl Envir Microbiol* 2002; 68: 2344-2352.

Chiang SH, Pettigrew JE, Clarke SD, Cornelius SG. Limits of medium chain and long chain triacylglycerol utilization by neonates piglets 1990; 68:1632-1638.

Clements LD, Miller BS, Streips UN. Comparative growth analysis of the facultative anaerobes *Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis*, and *Escherichia coli*. *Appl Microbiol* 2002; 25:284-286.

Clowes EJ, Aherne FX, Foxcroft GR, Baracos VE. Selective protein loss in lactating sows is associated with reduced litter growth and ovarian function. *J Anim Sci* 2003; 81:753-764.

Clowes EJ, Aherne FX, Schaefer AL, Foxcroft GR, Baracos VE. Parturition body size and body protein loss during lactation influence performance during lactation and ovarian function at weaning in first-parity sows. *J Anim Sci* 2003a; 81:1517-1528.

Clowes EJ, Soltwedel KT, Stahly TS, Aherne FX, Pettigrew JE. Mobilization of body tissue in the lactating sow and associations with post-weaning fertility. XI Congreso Nacional de AMENA y I Congreso Latinoamericano de Nutrición Animal; 2003 agosto 18-23 Cancún, (Quintana Roo) México. Asociación Mexicana de Especialistas en Nutrición Animal, Colegio Brasileiro de Nutricio Animal. 2003b:293-303.

Coffey MT, Seerley WR, Wabry JW. The effect of the source of supplemental dietary energy on sow milk yield, milk composition and litter performance. *J Anim Sci* 1982; 55: 1388-1394

Conway PL. Development of intestinal microbiota. In: Development of gut microbiota in the pigs: modulation of bacterial communities by different feeding strategies (Tesis de doctorado). Castillo Gómez M.S. Universidad Autónoma de Barcelona. España, 1997.

Cummins AG, Thompson FM. Effect of breast milk and weaning on epithelial growth of the small intestine in humans. *Gut* 2002; 51:748 -754.

Cunningham JG. Fisiología Veterinaria. Segunda edición. México D.F. McGraw-Hills Interamericana, 1997; 338-349.

Doyle ME. Alternative to antibiotic use for growth promotion in animal husbandry. *Food Research Institute Briefings* 2001; 4:1-17.

Donovan SM, Odle J. Growth factors in milk as mediators of infant development. *Annu. Rev. Nutr* 1994; 14:147-153.

Duc LH, Hong HL, Fairweather N, Ricca E, Cutting SM. Bacterial spores as vaccine vehicles. *Infection and Immunity* 2003; 71:2810-2818.

Duc LH, Hong HL, Barbosa TM, Henriques AO, Cutting SM. Characterization of *Bacillus* probiotics available for human use. *Appl Envir Microbiol* 2004; 70: 2161-2171.

Edwards-Ingram L, Gitsham P, Burton N, Warhurst G, Clarke I, Hoyle D, Oliver SG, Stateva L. Genotypic and physiological characterization of *Saccharomyces boulardii*, the probiótico strain of *Saccharomyces cerevisiae*. *Appl Envir Microbiol* 2007; 73: 2458-2467.

Edwards CA, Parrett AM. Intestinal flora during the first months of the life: new perspectives. *Brit J Nutr* 2002; 88: S11-S18.

Firkins LD. The impact of enteric and respiratory disease on the production profitability. Anais do III Congresso Latino-americano de Suinocultura. 2006 25-27 octubre, Foz do Iguacu, Brasil, 2006:163-166.

Fuller R. Probiotics in man and animals. Journal of Applied Bacteriology 1989; 66: 365-378.

Galao RP, Scheller N, Alves RI, Breining T, Meyrhans A, Diéz J. Saccharomyces cerevisiae: A versatile eukaryotic system in virology. Microbial Cell Factories 2007; 6:32-41.

Green DH, Wakeley PR, Page A, Barnes A, Baccigalupi L, Ricca E, Cutting SM. Characterization of two Bacillus probiotics. Appl Envir Microbiol 1999; 65: 4288-4291.

Gómez RS, Ángeles ML, Mojica EMC. Inclusión de paredes celulares más cultivo de levaduras y un microorganismo vivo en la dieta de pollos de engorda: Respuestas productivas y digestivas. XIII Congreso Bienal AMENA, 23 al 26 de octubre 2007, Veracruz México. Pág. 94-95.

Gómez RS, Ángeles ML, Ramírez RE, Pastrana MX, Guerrero MJ. Efecto del tipo de proteína y la inclusión de paredes celulares y cultivo de levaduras en la dieta de pollos en crecimiento. XIII Congreso Bienal AMENA, 23 al 26 de octubre 2007a, Veracruz México. Pág. 119-120.

Harms HK, Bertele RM, Bruer-Kleis D. Enzyme-substitution therapy with the yeast Saccharomyces cerevisiae in congenital sucrase-isomaltase deficiency. N Engl J Med 1987; 316:1306-1309.

Heidebrecht BB, MacVicar R, Ross OB, Whitehair CK. Composition of swine milk; Mayor constituents carotene, vitamin A and vitamin C. Journal of Nutrition 1950; 42:43-50.

Hoá NT, Baccigalupi L, Huxham A, Smertenko A, Van PH, Ammendola S, Ricca E, Cutting SM. Characterization of Bacillus species used for oral

bacteriotherapy and Bacterioprophyllaxis of gastrointestinal disorders. *Appl Envir Microbiol* 2000; 66: 5241-5247.

Hoang TT, Duc LH, Istitato R, Baccigalupi L, Ricca EPH, Cutting S.M. Fate and dissemination of *Bacillus subtilis* spores in a murine model. *Appl Envir Microbiol* 2001; 67: 3819-3823.

Holzappel WH, Schillinger U. Introduction to pre- and probiotics. *Food Research International* 2001; 35:109-166.

Hughes RC. Autolysis of isolated cell walls of *Bacillus licheniformis* N.C.T.C. 6346 and *Bacillus subtilis* Marburg strain 168. *Biochem J* 1970; 119: 849-860.

Inoue R, Tsukahara T, Nakanishi N, Ushida K. Development of the intestinal microbiota in the piglet. *J Gen Appl Microbiol* 2005; 51: 257-265.

Juno RJ, Knott AW, Profitt SA, Jarboe MD, Zhang Y, Edwin CR, Warner BW. Preventing enterocytes apoptosis after massive small bowel resection does not enhance adaptation of the intestinal mucosa. *Journal of Pediatric Surgery* 2004; 6: 907-911.

Jurgens MH, Rikabi RA, Zimmerman DR. The effect of dietary active dry yeast supplement on performance of sows during gestation-lactation and their pigs. *J Anim Sci* 1997; 75:593-597

Katouli M, Lund A, Wallgren P, Kuhn I, Soderlind O, Mollby R. Metabolic fingerprinting and fermentative capacity of the intestinal flora of pigs during pre- and post weaning. *J Appl Microbiol* 1997; 83: 147-154.

King RH, Toner MS, Dove H, Atwood CS, Brown WG. The response of the first-litter sows to dietary protein level during lactation. *J Anim Sci* 1993; 71:2457-2463.

Klobasa F, Werhanh E, Butler JE. Composition of sow milk during lactation. *J Anim Sci* 1987; 64:1458-1566.

Kritas SK, Alexopoulos C, Kyriakis SC. The effect of an EU-Registered probiotic on the health status and performance of sows and their litter. *Anais do 3º*

Congresso Latino-Americano de Suinocultura; 2006 25-27 octubre; Foz do Iguacu, Brasil. 2006: 733-736.

Koketsu Y, Dial GD, Pettigrew JE, Marsh WE, King VL. Influence of imposed feed intake patterns during lactation on reproductive performance and on circulating level of glucose, insulin, and luteinizing hormone in primiparous sows. *J Anim Sci* 1996; 74:1036-1046.

Kung L. Direct- fed microbial and enzyme feed additives. Miller Publishing Co. Minnetonka, MN, 1992: 17-21.

La Ragione R, Casula G, Cutting SM, Woodward MJ. *Bacillus subtilis* spore competitively exclude *Escherichia coli* 078:K80 in poultry. *Veterinary Microbiology* 2001; 79:133-142.

La Ragione R, Woodward MJ. Competitive exclusion by *Bacillus subtilis* spores of salmonella enterica serotype enteritidis and *Clostridium perfringens* in young chickens. *Veterinary Microbiology* 2003; 94: 245-256.

Line JE, Bailey JS, Cox NA, Stern NJ, Tompkins T. Effect of yeast supplemented feed on *Salmonella* and *Campylobacter* populations in broilers. *Poultry Science* 1998; 77: 405-410.

Mack DR, Michail S, Wei S, McDougall L, Wollingsworth MA. Probiotics inhibit enteropathogenic *E. coli* adherence in vitro by inducing intestinal mucin gene expression. *Am J Physiol* 1999; 276:941-950.

Mackie RI, Sghir A, Gaskins HR. Developmental microbial ecology of the neonate gastrointestinal tract. *Am J Clin Nutr* 1999; 69:1035-1046.

Martínez AM, Juste C, Dabard J, Sutren M, Bridonneau C, Beguet F, Lay C, Dore J, Eulcair E. Analysis of the fecal microflora of lactating sows consuming *Saccharomyces cerevisiae*. *J. Anim. Sci* 2002; 85 (suppl. 1): 1127.

Marubashi T, Suzuki T, Miyazaki H, Walker RD, Chio KH, Koketsu Y. The effect of *Bacillus subtilis* C-3102 (Calosporin ®) intake in growth performance, and micro-flora of pigs. *J Anim Sci* 1999; 77(suppl. 1):40.

Mavromichalis I. editor. Applied nutrition for young pigs. CABI Publishing UK. 2006: 47-56.

Mejía GCA, Pasquier A, Dourmad JY, Prunier A, Quesnel H. Protein (Lysine) restriction in primiparous sows: Effects of metabolic state, somatotropic axis, and reproductive performance after weaning. *J Anim Sci* 2002; 80:3286-3300.

Melin L, Jensen-Waern M, Johannisson A, Ederoth M, Katouli M, Wallgren P. Development of selected microflora and of phagocytic and killing capacity of neutrophils in young pigs. *Veterinary Microbiology* 1997; 54:287-300.

Metzler B, Bauer E, Mosenthin R. Microflora management in the gastrointestinal tract of piglets. *Asian-Aust. J Anim Sci* 2005; 18:1353-1362.

McCracken BA, Spurlock ME, Roos MA, Zuchermann FA. Weaning anorexia may contribute to local inflammation in the piglet small intestine. *J Nutr* 1999; 129:613-619.

Midtvedt AC, Carlstedt-Duke B, Midtvedt T. The establishment of mucin degrading microflora during the first two years of life. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition* 1994; 18:321–326.

Mirelman D, Altmann G, Eshdat Y. Screening of bacterial isolation for mannose specific lectin activity by agglutination of yeasts. *J Clin Microbiol* 1980; 328-331.

National Research Council. Nutrient requirements for swine. Tenth Revised Edition. 1998.

Nielsen TT, Trottier NL, Stein HH, Bellaver C, Easter RA. The effect of litter size and day of lactation on amino acid uptake by the porcine mammary glands. *J Anim Sci* 2002; 80:2402-2411.

Nguyen TH, Roger PL. Composition of the cell walls of several yeast species. *Appl Microbiol Biotechnol* 1998; 50:206-212.

Noblet J, Etienne M. Effect of the energy level in lactating sows on yield and composition of milk and nutrient balance of piglets. *J Anim Sci* 1986; 63:1888-1896.

Noblet J, Dourmand JY, Etienne M. Energy utilization in pregnant and lactating sows: modeling of energy requirements. *J Anim Sci* 1990; 68: 562-572.

O'Brien DP, Nelson LA, Huang FS, Warner BW. Intestinal adaptation: Function and regulation. *Semin Pediatr Surg* 2001; 10(2):56-64.

Parsons AB, Geyer R, Hughes TR, Boone C. Yeast genomic and proteomic in drugs discovery and target validation. *Progress in Cell Cycle Research* 2003; 5:159-166.

Pecquet S, Guillaumin D, Tancredo C, Andremont A. Kinetics of *Saccharomyces cerevisiae* elimination from the intestine of human volunteers and effect of this yeast on resistance to microbial colonization in Gnotobiotic mice. *Appl Envir Microbiol* 1991; 57:3059-3051.

Pekas JC, Wray JE. Principal gastrointestinal variables associated with metabolic heat production in pigs: Statistical cluster analyses. *J. Nutr.* 1991; 121: 231-239.

Pelicano ERL, Souza PA, Souza HBA, Figueiredo DF, Boiago MM, Carvalho SR, Bordon VF. Intestinal mucosa development in broiler chickens fed natural growth promoters. *Revista Brasileira de Ciência Avícola.* 2005; 7: 4.

Pelicano ERL, Souza PA, Souza HBA, Oba A, Boiago MM, Zeola NMBL, Scatolini AM, Bretanha VA, Lima TMA. Carcass and cut yield and meat qualitative traits of broilers fed diets containing probiotics and prebiotics. *Brazilian Journal of Poultry Science.* 2005a; 7: 169-175.

Pérez LS, Talavera R, Monroy HG, Lagunas S, Cuarón JA, Montes E, Vázquez JC. *Revista Latinoamericana de Microbiología* 2005; 47:70-75.

Pérez MVG, Solorio LJS, Juárez A, Becerril J, Castañeda SEO, Zapata SL, Anaya EA, Ángeles L, Tapia PG, Díaz OP, Coba AMA y Cuarón IJA. Comportamiento

productivo y respuesta inmune de cerdas reproductoras y su progenie por la adición de *saccharomyces cerevisiae* en la dieta. Memorias 1er Congreso Latinoamericano de Suinocultura; 2002 octubre; Foz do Iguacu Brasil 2002: 273-274.

Pérez VG, Ángeles ML, Anaya AM, Cuarón JA. *Saccharomyces cerevisiae* from breeding sows in a parvoviral challenge. *J Anim Sci* 2001; 79 (suppl. 1):454.

Pérez VG, Solorio S, Juárez A, Becerril J, Castañeda-Silva EO, Cuarón JA. *Saccharomyces cerevisiae* for lactating sows in a septic environment. *J Anim Sci* 2001a; 79(suppl. 1): 454.

Pettigrew EJ. Supplemental dietary fat for peripartal sows: A review. *J Anim Sci* 1981; 53:107-117.

Pinchuk IV, Bressolier P, Verneuil B, Fenet B, Sorokulova IB, Mégraud F, Urdaci MC. In Vitro anti-helicobacter pylori activity of the probiotic strain *Bacillus subtilis* 3 is due to secretion of antibiotics. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2001; 45:3156-3161.

Pluske JR, Williams IH, Zak LJ, Clowes EJ, Cegielski AC, Aherne FX. Feeding lactating primiparous sows to establish three divergent metabolic states: III. Milk production and pig growth. *J Anim Sci* 1998; 76:1167-1171.

Quesnel H, Mejía GCA, Pasquier A, Dourmad J, Prunier A. Dietary protein restriction during lactation in primiparous sows with different live weights at farrowing: II. Consequences on reproductive performance and interaction with metabolic status. *Reprod Nutr Dev* 2005; 45:57-68.

Ragland D, Schneider JL, Amass SF, Hill MA. Alternative to the use of antimicrobial feed additives in nursery diets: A pilot study. *J Swine Health Prod.* 2006. 14: 82-88.

Reid G, Friendship R. Alternative to antibiotic use: Probiotics for the gut. *Animal Biotechnology* 2002; 13:97-112.

Renaudeau D, Noblet J. Effects of exposure to high ambient temperature and dietary protein levels on sows milk production and performance of piglets. *J Anim Sci* 2001; 79:1540-1548.

Rentería FJA, Mejía GCA, Cuarón IJA. Manejo y alimentación de la cerda en Lactación. In: Mejía GCA, Rentería FLA, Braña BG, Cuarón IJA, Gómez RS, Mariscal LG. Alimentación del hato reproductor porcino. Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Fisiología y Mejoramiento Animal. INIFAP-SAGARPA. Libro Científico No. 1, Colón, Qro., México. 2007. Págs. 118-150.

Revell DK, Williams IH, Mullan BP, Ranford JL, Smits RJ. Body composition at farrowing and nutrition during lactation affect the performance of primiparous sows: II. Milk composition milk yield and pig growth. *J Anim Sci* 1998; 76:1738-1743.

Samanya M, Yamauchi K. Histological alterations of intestinal villus in chickens fed dried *Bacillus subtilis* var. natto. *Comparative Biochemistry and Physiology part A* 2002; 133: 95-104.

Sansom BF, Glead PT. The ingestion of sow's faeces by suckling pigs. *Br J Nutr* 1981; 46:451-456.

Santin E, Maiorka E, Macari M. Performance and mucosa intestinal development of broiler chickens fed diet containing *Saccharomyces cerevisiae* cell wall. *J Appl Poult. Res* 2001; 10:236-244.

Schultz M, Göttl C, Young RJ, Iwen P, Vanderhoof JA. Administration of oral probiotic bacteria to pregnant women causes temporary infantile colonization. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition* 2004; 38: 293-297.

Shea KM. Nontherapeutic use of antimicrobial agents in animal agriculture: Implications for pediatrics. *Pediatrics* 2004; 114:862-868.

Shirkey TW, Siggers RH, Goldade BG, Marshall JK, Drew MD, Laarveld B, Van Kessel AG. Effect of commensal bacteria on intestinal Morphology and expression

of proinflammatory Cytokines in the Gnotobiotic pig. *Exp Biol Med* 2006; 231:1333-1345.

Skrzypek T, Valverde JL, Skrzypek H, Wolinski J, Kazimierczak W, Szymanczyk S, Pawlowska M, Zabielski R. Light and scanning microscopy evaluation of the postnatal small intestinal mucosa development in pigs. *Journal of Physiology and Pharmacology* 2005; 56(3): 71-87.

Skrzypek T, Valverde JL, Skrzypek H, Kazimierczak W, Szymanczyk S, Pawloska M, Zabielski. Intestinal villi structure during the development of pig and wild boar crossbreed neonates. *Livestock Science* 2007; 109: 38-41.

Simpson JM, McCracken VJ, Gaskins HR, Mackie RI. Denaturing gradient gel electrophoresis analysis of 16S ribosomal DNA amplicons to monitor changes in fecal bacterial populations of weaning pigs after introduction of *Lactobacillus reuteri* strain MM53. *Appl Envir Microbiol* 2000; 4705-4714.

Spencer JD, Boyd RD, Cabrera R, Alle GL. Early weaning to reduce tissue mobilization in lactating sows and milk supplementation to enhance pig weaning weight during extreme heat stress. *J Anim Sci* 2003 ; 81:2041-2052.

Spinka M, Illmann G, Algers B, Stetkova Z. The role of nursing frequency in milk production in domestic pigs. *J Anim Sci* 1997; 75:1223-1228.

Spinosa MR, Braccini T, Ricca E, De Felice M, Morelli L, Pozzi G, Oggioni MR. On the fate of ingested *Bacillus* spore. *Res Microbiol* 2002; 151:361-368.

Swords WE, Wu CC, Champlin FR, Buddington RK. Postnatal changes in selected bacterial groups of the pigs colonic microflora. *Biol Neonate* 1993; 63:191-200.

Tam NK, Uyen NQ, Hong HA, Duc LH, Hoa TT, Serra CR, Henriques AO, Cutting SM. The intestinal life cycle of *Bacillus subtilis* and close relatives. *J Bacteriol* 2006; 188:2692-2700.

Toner MS, King RH, Dunshea FR, Dove H, Atwood CS. The effect of exogenous somatotropin on lactation performance of first-litter sows. *J Anim Sci* 1996; 74:167-172.

Taras D, Vahjen W, Macha M, Simon O. Response of performance characteristics and fecal consistency to long-lasting dietary supplementation with the probiotic strain *Bacillus cereus* var. *toyoi* to sow and piglets. *Institute of Animal Nutrition* 2005; 58(6): 405- 417.

Trujillo OME, Martínez GRG, Herradora LMA. *La Piara reproductora*. México DF: Ediones Mundi Prensa, 2002: 91-100.

van Milgen J, Noblet J. Partitionic of energy intake to heat protein and fat in growing pigs. *J Anim Sci* 2003; 81: 86-93.

Vente-Spreeuwenberg MAM, Verdonk JMA, Beynen AC, Verstegen MWA. Interrelationships between gut morphology and faeces consistency in newly piglets. *Animal Science* 2003; 77: 85-94.

Veum TL, Reyes J, Ellersieck M. Effect of supplemental yeast culture in sow gestation and lactation diets on apparent nutrients digestibilities and reproductive performance through one reproductive cycle. *J Anim Sci* 1995; 73:1741-1745.

Wallgren P, Melin L. Weaning systems in relation to disease. In: *The weaned pig. Nutrition and Management*. Varley M.A, Wiseman J. eds. CABI Publishing, UK, 2001.

Warzecha Z, Dembinski A, Brzozowski T, Ceranowics P, Padjo R, Niemiec J. Gastroprotective effect of histamine and acid secretion on ammonia induced gastric lesion in rats. *Scand J Gastroenterol* 2000; 35: 916-924.

White LA, Newman MC, Cromwell GL, Lindemann MD. Brewers dried yeast as a source of mannan oligosaccharides for weanling pigs. *J Anim Sci* 2002; 80:2619-2628.