



ESPE
UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA

**VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN, INNOVACIÓN Y
TRANSFERENCIA DE TECNOLOGÍA**

**CENTRO DE POSGRADOS MAESTRÍA EN NUTRICIÓN Y
PRODUCCIÓN ANIMAL**

**TRABAJO DE TITULACIÓN PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO
DE MAGÍSTER EN: NUTRICIÓN Y PRODUCCIÓN ANIMAL**

**TEMA: RESPUESTA PRODUCTIVA Y HEPÁTICA DE GALLINAS
LOHMANN A LA ADICIÓN DE COLINA (BIOCHOLINE)**

**AUTOR:
NAVARRETE ARGUELLO, ALFONSO FERNANDO**

**DIRECTOR:
PAZMIÑO MORALES, JULIO CESAR**

SANGOLQUI

2019



VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN, INNOVACIÓN Y TRANSFERENCIA DE
TECNOLOGÍA
CENTRO DE POSGRADOS

CERTIFICADO DEL DIRECTOR

Certifico que el trabajo de titulación, ***“RESPUESTA PRODUCTIVA Y HEPÁTICA DE GALLINAS LOHMANN A LA ADICIÓN DE COLINA (BIOCHOLINE)”*** fue realizado por el señor *Navarrete Arguello, Alfonso Fernando*, el mismo que ha sido revisado en su totalidad, analizado por la herramienta de verificación de similitud de contenido; por lo tanto, cumple con los requisitos teóricos, científicos, técnicos, metodológicos y legales establecidos por la Universidad de Fuerzas Armadas ESPE, razón por la cual me permito acreditar y autorizar para que lo sustente públicamente.

Sangolquí, 08 de agosto del 2018


.....
Ing. Julio Pazmiño Morales

C.C: 1801564395



VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN, INNOVACIÓN Y TRANSFERENCIA DE
TECNOLOGÍA

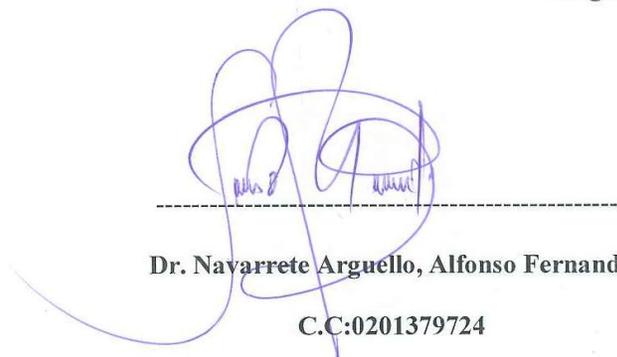
CENTRO DE POSGRADOS

AUTORÍA DE RESPONSABILIDAD

Yo, *Navarrete Arguello, Alfonso Fernando*, con cédula de ciudadanía n°: 0201379724, declaro que el contenido, ideas y criterios del trabajo de titulación: “*Respuesta Productiva Y Hepática De Gallinas Lohmann A La Adición De Colina (Biocholine)*” es de mi autoría y responsabilidad, cumpliendo con los requisitos teóricos, científicos, técnicos, metodológicos y legales establecidos por la Universidad de Fuerzas Armadas ESPE, respetando los derechos intelectuales de terceros y referenciando las citas bibliográficas.

Consecuentemente el contenido de la investigación mencionada es veraz.

Sangolquí, 08 de agosto del 2018



Dr. Navarrete Arguello, Alfonso Fernando

C.C:0201379724



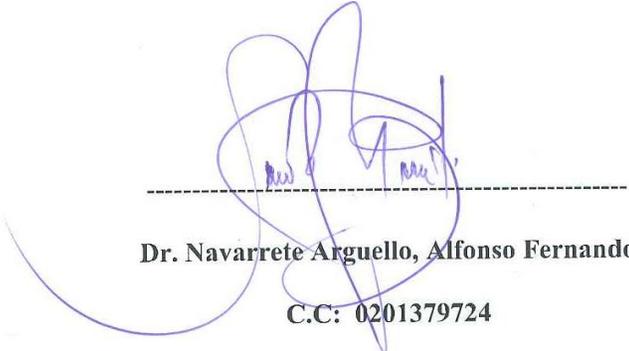
VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN, INNOVACIÓN Y TRANSFERENCIA DE
TECNOLOGÍA

CENTRO DE POSGRADOS

AUTORIZACIÓN

Yo, **Navarrete Arguello, Alfonso Fernando**, con cédula de ciudadanía n°: 0201379724, autorizo a la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE publicar el trabajo de titulación: **“Efecto Del Uso De Dos Complejos Minerales Orgánico E Inorgánico Sobre Desempeño Y Eficiencia Reproductiva En Cerdos Reproductores”** en el Repositorio Institucional, cuyo contenido, ideas y criterios son de nuestra responsabilidad.

Sangolquí, 08 de agosto del 2018



Dr. Navarrete Arguello, Alfonso Fernando

C.C: 0201379724

DEDICATORIA

A Dios: por permitirme tener la fuerza para terminar mi carrera.

A mis padres que están en el cielo: por su esfuerzo en concederme la oportunidad de estudiar y por su constante apoyo a lo largo de mi vida.

A mis hermanos, parientes y amigos: por sus consejos, paciencia y toda la ayuda que me brindaron para concluir mis estudios.

A mis hijos: Por ser la razón de mi existir sin ellos la fuerza de levantarme cada día para ser mejor persona no sería una realidad, gracias Marcelino Fernando, Amelia Zarahi, Elany Celine y Jacob Abraham por existir.

Dr. Navarrete Arguello, Alfonso Fernando

AGRADECIMIENTO

El primer lugar agradecer a Dios por permitirme alcanzar este nuevo peldaño y por todas las bendiciones otorgadas en el largo trayecto de mi vida, en especial a mi familia y mis hijos por sacrificar un poco de su valioso tiempo para dedicarme a cumplir con las disposiciones y tareas encomendadas en la Maestría.

Agradecer infinitamente al Ing. Mario Ortiz Manzano Coordinador y Catedráticos del Departamentos de Postgrados de la ESPE, por todo ese apoyo brindado para la consecución de este trabajo investigativo desde el aspecto profesional y personal que me permitió alcanzar este reto, con su aporte incondicional técnico y profesional que me infundió dedicación y esmero en alcanzar este nuevo logro profesional.

Al Ing. Rómulo Falconi, representante de la Empresa Invab en Ambato Ecuador, por ayudarme con los análisis histopatológicos y morfométrico de las aves sacrificadas en la investigación de este trabajo.

A la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE y a su equipo técnico y administrativo de Producción y Nutrición Animal, en especial al Ing. Julio Pazmiño Morales Director de Tesis, quien con su aporte técnico permitió realizar, alcanzar y plasmar la consecución de este trabajo investigativo.

Por último, agradecer a todos mis compañeros de la Maestría en Producción Animal tercera promoción en especial a Luis Balarezo Urresta por infundirme valor y esperanza en alcanzar este nuevo logro profesional.

Dr. Navarrete Arguello, Alfonso Fernando

ÍNDICE DE CONTENIDO

DEDICATORIA.....	iv
AGRADECIMIENTO.....	v
ÍNDICE DE CONTENIDO.....	vi
INDICE DE TABLAS	ix
INDICE DE FIGURAS	xii
RESUMEN.....	xiii
ABSTRACT	xiv
CAPITULO I.....	15
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	15
1.1 Introducción	15
1.2 Justificación.....	16
1.3 Objetivos	17
1.3.1 Objetivo General.....	17
1.3.2 Objetivos Específicos	17
1.4 Hipótesis.....	18
CAPÍTULO II	19
REVISIÓN DE LA LITERATURA.....	19
2.1. Marco de Referencia (antecedentes de la investigación)	19
2.1.1. Colina	20
2.1.1.1. Colina y su utilización en nutrición animal	21
2.1.1.2. Uso de biocolina en aves.....	22
2.1.1.3. Fuentes de colina.....	23
2.1.1.4. Modo de acción de la biocholine	23
2.1.1.5. Ruta metabólica del cloruro de colina	25
2.1.1.6. Propiedades físico-químicas	26
2.1.2. Síndrome de hígado graso en ponedoras.....	27
2.1.3. Formación de trimetilamina en ponedoras a partir de cloruro de colina.....	28
2.1.4. Cloruro de colina y BioCholine	29
2.1.4.1. Eficacia de la BioCholine en dietas para aves	30
2.1.5. Pollos de engorda, prueba de campo (datos sin publicar)	31
2.1.6. Gallinas de postura	32

CAPÍTULO III	33
MATERIALES Y METODOS	33
3.1 Ubicación del lugar de investigación	33
3.1.1 Ubicación Ecológica	33
3.1.2 Características climáticas	33
3.2 Materiales y Equipos	34
3.2.1 Materiales de campo	34
3.2.2 Materiales y equipos de laboratorio	35
3.3 Metodología	36
3.3.1 Toma de muestra	36
3.3.2 Análisis de Laboratorio	36
3.4 Factores en estudio	37
3.5 Diseño experimental	37
3.5.1 Tipo de diseño	37
3.5.2 Características de los tratamientos para los bloques	37
3.5.3 Variables en estudio	38
3.5.4 Factores de estudio y tratamientos	39
3.5.5 Unidades experimentales	39
3.5.6 Croquis del diseño	40
3.5.7 Análisis Estadístico	40
3.5.8 Coeficiente de variación	41
3.5.9 Mortalidad y Viabilidad	41
3.5.10 Evaluación de la calidad del huevo	43
3.5.11 Unidades Haugh	44
3.5.12 Índice de eficiencia productiva (IEP)	44
3.5.13 Costo de las Dietas	45
3.5.14 Análisis económico	45
3.5.15 Métodos Específicos de Manejo del Experimento	45
3.5.16 Histología de hígado	46
CAPÍTULO IV	49
RESULTADOS Y DISCUSION	49
4.1 Parámetros productivos	49
4.1.1 Número de huevos	49

4.1.2	Peso en gramos	50
4.1.3	Porcentaje de postura	51
4.1.4	Conversión alimenticia	52
4.1.5	Masa del huevo	53
4.2	Propiedades huevos	54
4.2.1	Peso huevos	54
4.2.2	Altura de la albumina	55
4.2.3	Color de yema	56
4.2.4	Unidades Haugh	58
4.2.5	Resistencia del cascarón	59
4.2.6	Grosor del cascarón	60
4.3	Variables histo morfométricas	61
4.4	Histológico de hígado	62
4.5	Análisis marginal del costo de producción	66
CAPÍTULO V		68
6. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES		68
5.1	Conclusiones	68
5.2	Recomendaciones	68
BIBLIOGRAFIA		69
ANEXOS		71

INDICE DE TABLAS

Tabla 1 <i>Perdida de la actividad de las vitaminas en una mezcla sometida a diversas temperaturas</i>	30
Tabla 2 <i>Resultados de los parámetros productivos* de los pollos de engorda en la fase de iniciación (1- a 21-d)</i>	31
Tabla 3 <i>Resultados de los parámetros productivos* de los pollos de engorda en la fase de crecimiento (22- a 42-d)</i>	31
Tabla 4 <i>Comportamiento productivo de los pollos de engorde alimentados con BioCholine® o cloruro de colina 60%.....</i>	32
Tabla 5 <i>Comportamiento productivo de gallinas ponedoras HyLine alimentadas con cloruro de colina, cloruro de colina más biotina o BioCholine® suplementada en la dieta.....</i>	33
Tabla 6 <i>Esquema del experimento a emplearse</i>	39
Tabla 7 <i>Análisis de varianza para un DCA con cuatro tratamientos y 15 repeticiones.....</i>	40
Tabla 8 <i>Calidad del huevo y su relación con las unidades HAUGH.....</i>	44
Tabla 9 <i>Promedios± EE del número de huevos semanales de gallinas alimentadas con diferentes dosis de biocolina.....</i>	49
Tabla 10 <i>Promedios± EE del peso semanal de huevos semanales de gallinas alimentadas con diferentes dosis de biocolina.....</i>	50
Tabla 11 <i>Promedios± EE del % de postura de gallinas alimentadas con diferentes dosis de biocolina.....</i>	51
Tabla 12 <i>Promedios ± EE de la conversión alimenticia de gallinas alimentadas con diferentes dosis de biocolina.....</i>	52

Tabla 13 <i>Promedios± EE de la masa de huevo de gallinas alimentadas con diferentes dosis de biocolina.....</i>	53
Tabla 14 <i>Promedios± EE del peso semanal de huevos de gallinas alimentadas con diferentes dosis de biocolina.....</i>	54
Tabla 15 <i>Promedios± EE de la altura de albumina de huevos de gallinas alimentadas con diferentes dosis de biocolina.....</i>	55
Tabla 16 <i>Promedios± EE del color de yema de huevos de gallinas alimentadas con diferentes dosis de biocolina.....</i>	56
Tabla 17 <i>Promedios± EE de grados Haugh de huevos de gallinas alimentadas con diferentes dosis de biocolina.....</i>	58
Tabla 18 <i>Promedios± EE de la resistencia de cascara de huevos de gallinas alimentadas con diferentes dosis de biocolina.....</i>	59
Tabla 19 <i>Promedios± EE de grosor de cascarón de huevos de gallinas alimentadas con diferentes dosis de biocolina.....</i>	60
Tabla 20 <i>Cortes histológicos examen macroscópicos.....</i>	61
Tabla 21 <i>Cortes histológicos examen microscópico</i>	62
Tabla 22 <i>Características macroscópicas e histopatológicas de los hígados de las Gallinas ponedoras Lohman Brown Classic en la tercera fase de Producción.....</i>	63
Tabla 23 <i>Estadísticos descriptivos</i>	64
Tabla 24 <i>Prueba de Kruskal-Wallis / Prueba bilateral</i>	64
Tabla 25 <i>Comparaciones múltiples por pares mediante el procedimiento de Steel-Dwass-Critchlow-Fligner / Prueba bilateral.....</i>	64

Tabla 26 <i>Análisis del Beneficio Neto</i>	66
Tabla 27 <i>Análisis de datos dominados</i>	67

INDICE DE FIGURAS

<i>Figura 1</i> Diferentes formas de colina en las materias Primas	20
<i>Figura 2</i> Ruta metabólica de la colina.....	26
<i>Figura 3</i> Estructura química de la colina natural y de la colina inorgánica	27
<i>Figura 4</i> Mapa de ubicación de Espe- Iasa.....	34
<i>Figura 5</i> Esquema del experimento.....	40
<i>Figura 6</i> Número de huevos por tratamiento.....	50
<i>Figura 7</i> Peso en gramos de huevos	51
<i>Figura 8</i> Porcentaje de Postura.....	52
<i>Figura 9</i> Conversión alimenticia	53
<i>Figura 10</i> Masa de huevo	54
<i>Figura 11</i> Peso de Huevos.....	55
<i>Figura 12</i> Altura de Albumina	56
<i>Figura 13</i> Color de yema.....	57
<i>Figura 14</i> Unidades Haugh.....	59
<i>Figura 15</i> Resistencia de cascarón	60
<i>Figura 16</i> Grosor de Cascarón.....	61
<i>Figura 17</i> Medias & Intervalo de confianza (macro1).....	65
<i>Figura 18</i> Medias & Intervalo de confianza.....	65
<i>Figura 19</i> Características Histopatológicas de Hígados de Gallinas Ponedoras de la Línea Lohmann Brown Classic Tercera fase de Producción	66
<i>Figura 20</i> Gráfico de puntos dominados	67

RESUMEN

Este trabajo fue conducido a evaluar la respuesta productiva y hepática de gallinas Lohmann Brown- Classic con la adición de colina (Biocholine®), como una fuente comercial de colina natural a base de extracto de *Trachyspermum amni*, *Citrullus colocynthis*, *Achyranthus aspera* y *Azadirachta indica* (Biocholine®). Para este estudio se aplicó un DCA con 4 tratamientos, 15 repeticiones y el tamaño de la unidad experimental fue de 5 aves. Se utilizaron un total de 300 gallinas ponedoras de línea Lohman en tercera fase de producción, alojadas en un sistema de 3 pisos que estaban divididos en jaulas que contenían 5 gallinas, con bebederos individuales y comederos separados. Las variables medidas fueron calidad de huevo (Unidades Haugh), color de la yema, altura de la albumina, índice productivo, mortalidad, viabilidad, producción, peso de huevos diario y 8 cortes laminares de fragmento de hígado de gallinas para determinar la lipidosis hepática y el efecto de la suplementación de colina natural. Con las medias de las variables se realizó análisis de varianza y la prueba de significancia según el modelo prueba mínima de diferencias (LSD) Fisher, en la evaluación económica se realizó un análisis marginal. La altura de la albumina y las unidades Haugh se obtuvieron a través del medidor digital de huevos NABBEL DTE 6000, a cada tratamiento se compararon las medias donde no se encontraron diferencia significativa. A los resultados histopatológicos se realizaron el test de Kruskal-Wallis prueba no paramétrica para determinar efecto de la suplementación de colina natural ($P > 0,05$).

PALABRAS CLAVES:

- **COLINA NATURAL**
- **AVES DE POSTURA**

- **ANÁLISIS HISTOPATOLÓGICOS**

ABSTRACT

This work was conducted to evaluate the productive and hepatic response of Lohmann Brown-Classic hens with the addition of choline (Biocholine®), as a commercial source of natural choline based on extract of *Trachyspermum amni*, *Citrullus colocynthis*, *Achyranthus aspera* and *Azadirachta indica* (Biocholine®). For this study, a DCA was applied with 4 treatments, 15 repetitions and the size of the experimental unit was 5 birds. A total of 300 laying hens of the Lohman line were used in the third stage of production, housed in a 3-floor system that was divided into cages containing 5 hens, with individual troughs and separate feeders. The variables measured were egg quality (Haugh Units), color of the yolk, albumin height, productive index, mortality, viability, production, daily egg weight and 8 lamellar slices of chicken liver fragment to determine hepatic lipidosis and the effect of natural choline supplementation. Variance analysis was performed with the means of the variables and the significance test according to Fisher's minimum difference test model (LSD). In the economic evaluation, a marginal analysis was performed. The height of the albumin and the Haugh units were obtained through the digital egg meter NABBEL DTE 6000, to each treatment the means were compared where no significant difference was found. To the histopathological results the Kruskal-Wallis test was performed nonparametric test to determine the effect of natural choline supplementation ($P > 0.05$).

KEYWORDS:

- **NATURAL HILL**
- **LAYING BIRDS**
- **HISTOPATHOLOGICAL ANALYSIS**

CAPITULO I

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1 Introducción

En las actuales estirpes de aves productoras de huevo comercial, uno de los grandes problemas que existe es sin duda la cantidad de aves que presentan problemas en el aspecto de desempeño productivo asociado al consumo de este suplemento alimenticio. Al momento de planear esta investigación existen inquietudes y discrepancias entre los nutricionistas por determinar el nivel adecuado de colina en las raciones para gallinas en postura, pues no obstante que varios investigadores norteamericanos han indicado niveles mínimos, el Consejo Nacional de Investigación de la Academia Nacional de Ciencias de Norteamérica no da un requerimiento mínimo (1966). El valor mínimo dado por Saloma et al. (1965) es de 1,320 mg./Kg., nivel con el cual se encontró respuesta tanto en conversión de alimento a huevo como en producción de huevo. Balloun (1956) recomienda un valor mínimo de 1,100 mg./Kg. de alimento para máxima producción. Valores aún menores son dados por otros investigadores como los de Holmes y Kramer (1965) de 985 mg./Kg., los de Johnson (1954) de 905 mg./Kg. y los de Dagher et al. (1960) los cuales no encontraron respuesta en postura a valores superiores de 880 mg./Kg. de alimento.

Razón por la cual se estima que la deficiencia de colina es la responsable del apareamiento del síndrome de hígado graso, ya que este contiene una sobreacumulación de grasa de un 25 a 30% en comparación con hígados normales; además se puede observar hemorragias capilares y hematomas, en aquellas parvadas que padecen esta condición hay una baja en la postura y un

incremento en la mortalidad. Debido a que la colina tiene una acción lipotrófica, ya que donando grupos metilos favorece la formación de fosfolípidos que movilizan la grasa y por ende previenen la infiltración de grasa en el hígado (Sanz y Balboa, 1963; Sutton et al., 1957), por lo que al valorar la suplementación de diferentes niveles de bio colina en dietas de tipo práctico (en nuestro medio) se determinaría su efecto sobre la producción de huevo y contenido de lípidos en el hígado.

1.2 Justificación

Para mejorar la productividad y salud de los animales se suplementa colina sintética en forma de sales con la cual se presentan varios desafíos para los nutricionistas debido a sus características físico-químicas. El cloruro de colina, tiene una alta capacidad higroscópica que puede mermar su estabilidad, siendo incierto su aporte real en colina pura y puede afectar la estabilidad de otras vitaminas (alimento y/o las pre-mezclas).

BioCholine es elaborado a partir de ingredientes naturales seleccionados para proporcionar una fuente de colina estable, la cual puede representar una alternativa rentable al cloruro de colina sintética. Es una fórmula a base de plantas, útil para la alimentación animal. Contiene colina natural altamente biodisponible y estable en su forma conjugada/esterificada (fosfatidilcolina, lecitina y equivalentes). También contiene glicerol, inositol y fosfatidilserina, moléculas que desempeñan un papel importante en el metabolismo, la modulación enzimática y biosíntesis de fosfatidilcolina, al mejorar el rendimiento de la dieta de alta concentración energética, favoreciendo la conversión alimenticia, ganancia de peso, producción de huevos, viabilidad e incubabilidad. Además, que por su composición química no se puede convertir en trimetilamina, compuesto tóxico que contiene olor a pescado en los huevos y la carne.

Es altamente bio - activa, para la metabolización más eficiente de dietas altas en energía, ayudando a prevenir el hígado graso (Esteatosis hepática), para mantener la salud y producción a niveles óptimos. Mantiene una utilización óptima de la grasa en la dieta y su movilización desde el hígado hasta los tejidos adiposos, mejorando el rendimiento de la canal y su calidad con bajo contenido de lípidos. Además, mejora la dieta alta en energía, ayudando a desviar el exceso energético hacia la acumulación proteínica del músculo, mejorando el índice de conversión alimentaria, así como el aumento de la producción de huevos en reproductoras y ponedoras comerciales, lo cual definitivamente ayudaría a mejorar los índices productivos de aves ponedoras de huevo comercial.

1.3 Objetivos

1.3.1 Objetivo General

- Evaluar el empleo de una fuente orgánica de colina (Biocholine) en gallinas Lohmann, a diferentes dosis (0, 160, 240 y 320 gr/TM) en el alimento, para medir el comportamiento productivo y condición hepática.

1.3.2 Objetivos Específicos

- Evaluar la respuesta productiva de gallinas Lohmann alimentadas con diferentes fuentes de colina. (cloruro de colina – BioCholine)
- Evaluar la condición hepática, de gallinas ponedoras en la segunda fase de producción, mediante cortes histológicos.
- Evaluar económicamente y determinar el mejor tratamiento.
- Valorar la calidad de huevos de los diferentes tratamientos

1.4 Hipótesis

H0: El uso de una fuente orgánica de cloruro de colina, en la alimentación de gallinas ponedoras de huevo comercial, mejora el desempeño productivo y la condición.

H1: El uso de una fuente orgánica de cloruro de colina, en la alimentación de gallinas ponedoras de huevo comercial, no mejora el desempeño productivo y la condición hepática.

CAPÍTULO II

REVISIÓN DE LA LITERATURA

2.1. Marco de Referencia (antecedentes de la investigación)

Ante la presión productiva a que son sometidas las actuales estirpes de aves de postura, bajo un sistema de altamente intensivo, que hace que las aves explotadas bajo esas condiciones, con mucha frecuencia presenten problemas de retardo en el crecimiento, hígado graso y perosis, con lo cual se ven afectados parámetros como, desempeño productivo del ave, peso y tamaño de huevo y vida útil de las mismas, adicionalmente el uso de la colina ha sido tema de controversia en que las gallinas pueden sintetizar en condiciones prácticas a sabiendas que los alimentos naturales no contienen la misma cantidad de colina, ni es la cantidad presente previsiblemente biodisponible, debido a variaciones en las condiciones de crecimiento de los cultivos, por lo que se adiciona cloruro de colina al 60% a fin de prevenir deficiencias que conducirían a deformidades de los huesos de la pierna, ya que la colina actúa específicamente para prevenir el síndrome de hígado graso y ayuda en la formación de neurotransmisores, la acetilcolina, y manteniendo el funcionamiento adecuado del sistema nervioso.

Además de la discrepancia en las recomendaciones mínimas, los informes provenientes de los Estados Unidos de Norteamérica con respecto a la aparición del "síndrome de hígado grasoso", es el estímulo a llevar a cabo este estudio. El primer informe de este síndrome fue dado por Couchen 1956. Las características de este síndrome descritas por Ringer y Sheppard (1963) son las siguientes: el hígado contiene una sobreacumulación de grasa de un 25 a 30% en comparación con hígados normales; además se observan hemorragias capilares y hematomas. En aquellas parvadas que padecen esta condición hay una baja en la postura y un incremento en la mortalidad.

Debido a que la colina tiene una acción lipotrófica, ya que donando grupos metilos favorece la formación de fosfolípidos que movilizan la grasa y por ende previenen la infiltración de grasa en el hígado (Sanz y Balboa, 1963; Sutton et al., 1957), la suplementación a diferentes niveles en dietas de tipo práctico (en nuestro medio), su efecto en la producción de huevos y el contenido de lípidos en el hígado eran las interrogantes. Sobre todo, si se considera que los ingredientes usados en Ecuador en la elaboración de alimentos (maíz - soya) son buenas fuentes de colina.

2.1.1. Colina

La colina es la molécula precursora de la acetilcolina, un neurotransmisor que está involucrado en muchas funciones, entre las cuales se incluye la memoria y el control del músculo.

La colina se usa en la síntesis de componentes que forman parte de las membranas celulares del cuerpo.

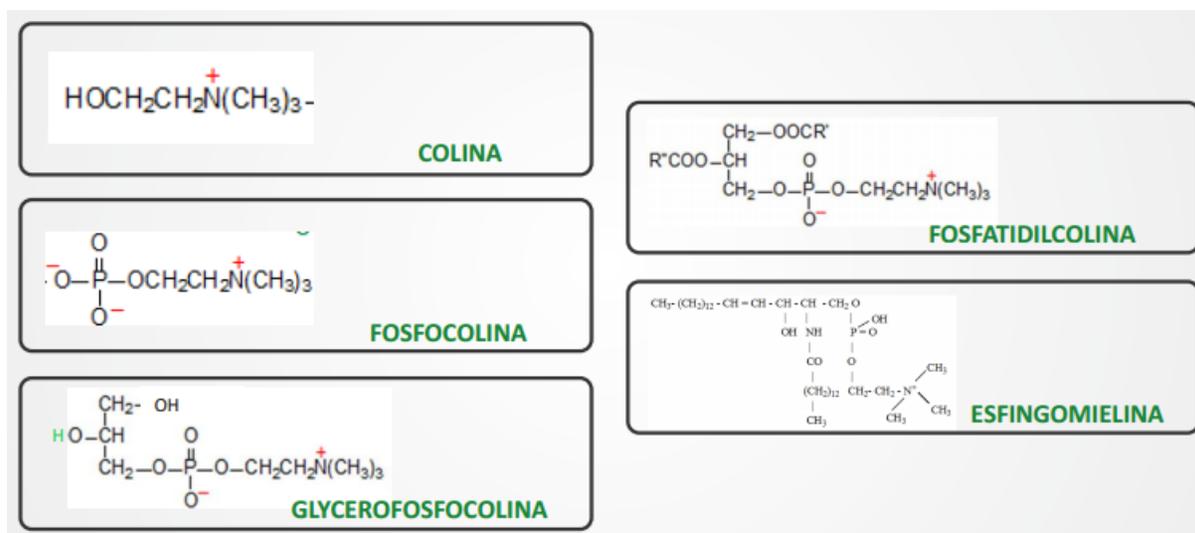


Figura 1. Diferentes formas de colina en las materias Primas

Fuente: (Nutritec, 2016)

Es un nutriente esencial soluble en agua. Se le suele agrupar con las vitaminas del grupo B (vitamina B). El nombre colina hace referencia generalmente a una serie de sales cuaternarias de

amonio que contienen el catión N, N, N- trimetiletanolamina. El catión aparece en la cabeza de los grupos fosfatidilcolina y esfingomielina, dos clases de fosfolípidos que son abundantes en las membranas celulares.

2.1.1.1. Colina y su utilización en nutrición animal

En 1985, Theodore Gobley describió una sustancia a la cual dio el nombre de "lecitina", del griego "lekitos", de yema de huevo. En 1862, se señaló que cuando la lecitina de la bilis se calienta, se genera un nuevo producto químico nitrogenado denominado como "colina". Investigaciones recientes sobre la naturaleza de la colina, revelaron su importancia en diversas funciones del metabolismo en humano y en los animales.

Las funciones de la colina en el individuo se pueden agrupar en cuatro categorías: a) formación de acetilcolina, necesaria para la transmisión de los impulsos nerviosos y, b) como fosfolípidos, componente estructural de la pared celular y del crecimiento óseo, c) como factor esencial en el metabolismo de la grasa en el hígado y, d) como un donador de grupos metilo para la formación de metionina a partir de homocisteína.

Es importante mencionar que algunas especies de animales pueden producir colina por síntesis endógena, pero de forma prioritaria, la metionina se utiliza como principal donador de grupos metilo en las funciones metabólicas.

Por otra parte, no todos los animales ni a todas sus edades son capaces de producir suficiente colina endógena para cubrir sus requerimientos nutricionales. Esto hace necesario suplementar las dietas con metionina, amino ácido limitante para cubrir las funciones de metilación. Así, la colina se suplementa en las dietas de animales con la finalidad de brindar una nutrición óptima.

2.1.1.2. Uso de biocolina en aves

La colina es un aminoácido crítico redescubierto para las aves de corral. La suplementación de colina en la ración avícola está bien establecida para mejorar el crecimiento, el rendimiento y la calidad de la canal en pollos de engorde. Tiene tres grupos metilo químicamente reactivos unidos al átomo de nitrógeno de la molécula de glicina. Por lo tanto, se puede utilizar como donador de metilo parcialmente para sustituir a la metionina en aves de corral y cerdos. En las aves de corral, el grupo metilo está disponible después de la conversión en betaína en el hígado. Los estudios de investigación indican que la colina tiene un papel de ahorro de energía al reducir los requisitos de mantenimiento y, por lo tanto, mejorar el crecimiento y la productividad en general. (Jadhav, Maini, & K, 2008)

Calderano, Nunes, Rodrigueiro & César (2015) mencionaron que la colina se añade a las dietas de los animales en la forma de cloruro de colina. Sin embargo, esta fuente tiene algunas desventajas como alta higroscopicidad, la cual se muestra como la aceleración de la pérdida oxidativa de vitaminas en la dieta y formación de trimetilamina en el tracto gastrointestinal de las aves. La trimetilamina es una amina alifática de cadena corta que se forma a partir de la colina dietética en una reacción catalizada por enzimas dentro de las bacterias intestinales. Sin embargo, la colina también está presente en las plantas en forma de fosfatidilcolina, colina libre y esfingomielina. Actualmente hay productos naturales, producidos a partir de plantas seleccionadas, con alto contenido de colina en forma esterificada y con alta biodisponibilidad, que puede ser una alternativa importante al uso de cloruro de colina sintético. Muchas investigaciones han demostrado que estos productos pueden reemplazar el cloruro de colina en dietas para aves de corral.

2.1.1.3. Fuentes de colina

La fuente común de colina es el cloruro de colina (forma de sal), producido por síntesis química. El cloruro de colina está disponible a un 70% en forma líquida y a un 60% en forma polvo.

Los productos de sales de colina, se sintetizan usando gas natural que se hace reaccionar con el metanol y el amoníaco para producir trimetilamina, en una segunda reacción con dióxido de etileno para formar la colina (Griffith & Nye, 1971). Finalmente, la base alcalina se hace reaccionar con el ácido clorhídrico para producir la sal del cloruro.

La colina líquida al 70% muestra ser muy corrosiva, mientras que la de 60% sólida es altamente higroscópica y debe protegerse de la exposición de la humedad.

La betaína es un producto que por sí sola no provee colina, pero que puede ahorrar colina en el sistema del animal. (Dilger, Garrow, & Baker, 2007)

La BioCholine® es un suplemento alimenticio fabricado a base de plantas (directrices ISO / GMP), que contiene colina natural altamente biodisponible y estable en su forma conjugada / esterificada (fosfatidilcolina, lecitina y equivalentes). También contiene glicerol, inositol y fosfatidilserina, moléculas que desempeñan un papel importante en el metabolismo, la modulación enzimática y la biosíntesis de fosfatidilcolina. Es un producto en polvo, con buena fluidez y no es higroscópico. (Elizarraraz, 1999)

2.1.1.4. Modo de acción de la biocholine

La BioCholine contiene fosfatidilcolina, una fuente de colina esterificada, conjugada a una molécula de fosfato. Además, de otros componentes de tipo lecitinas como el fosfatidilinositol y

la fosfatidiletanolamina, moléculas con una actividad emulsificante que pueden participar también en la activación de receptores celulares del metabolismo y la movilización de la grasa.

Dichos receptores pueden estimular la liberación de adiponectina, proteína implicada en la regulación de la glucosa y la grasa, disminución de la absorción e incremento en la redistribución de los ácidos grasos libres en el hígado. Participando en la modulación del metabolismo de lípidos, e incrementando la redistribución de grasa en los tejidos. Esto puede explicar por qué, pollos de engorde que fueron suplementados con BioCholine® en el alimento mostraron una reducción de la grasa en el abdomen e hígado. (Chatterjee, Kumar, & Sharma, 2003)

A diferencia del cloruro de colina que es hidrosoluble y es absorbido a través de la circulación portal, la fosfatidilcolina es liposoluble y se absorbe como quilomicrones en la linfa a través del conducto torácico. Dando como resultado, una entrega diferenciada y redistribución de las dos formas de colina en los tejidos. (National Academy of Sciences, 1998)

De La Hueriga y Popper (1952) encontraron que sólo un tercio de la colina del cloruro de colina puede ser absorbida a nivel del tubo digestivo, y hasta dos tercios pueden ser convertidos en trimetilamina por acción de las bacterias intestinales, trimetilamina que se excreta en la orina dentro de 6 a 12 horas. Cuando se suministró colina en forma de lecitina (fosfatidilcolina), se excretó una menor parte de trimetilamina en la orina entre 12 a 24 horas después del consumo. Basados en estudios de la cinética de fuentes de colina, (Wurtmann, Growdon, & Hirsch (1977) encontraron que el consumo de lecitina oral fue considerablemente más eficaz para incrementar y mantener (curva de la cinética) por mayor tiempo los niveles de colina en el suero, que cantidades equivalentes de cloruro de colina. (Eterradossi & Saif, 2008)

Por el contrario, en el caso de la colina proveniente de la fosfatidilcolina u otras lecitinas se sugiere un valor cercano al 100% de viabilidad (Emmert, Garrow, & Baker, 1996). Así, aunque el

cloruro de colina contiene una mayor cantidad de colina por kg de producto respecto al contenido en la BioCholine® gran parte de esta colina no está disponible para el animal.

En comparación al cloruro de colina, podríamos resumir que la BioCholine: muestran una mayor biodisponibilidad; diferente vía de absorción y cinética; y presencia de ingredientes bioactivos (fosfatidilinositol, fosfatidilcolina y fosfatidilserina), con efectos sobre el metabolismo de lípidos. Todos los factores previamente enumerados podrían resolver en parte por qué menores dosis de BioCholine pueden reemplazar dosis de inclusión más elevadas de cloruro de colina en dietas para animales. (Herrera, 2010)

Suplementar la colina en la forma natural (fosfatidilcolina), puede representar ventajas como una mayor estabilidad y biodisponibilidad respecto al uso de sales de colina producidas por síntesis química. Por otra parte, para comprender mejor el mecanismo de acción y validar los posibles beneficios de la BioCholine® en dietas de animales de producción, es necesario aun mayor investigación.

2.1.1.5. Ruta metabólica del cloruro de colina

La colina no esterificada es absorbida en el intestino delgado mediante transporte facilitado o difusión pasiva. Sus derivados hidrosolubles (fosfocolina y glicerofosfocolina) son distribuidos por la circulación portal mientras que sus derivados liposolubles (fosfatidilcolina y esfingomielina) lo hacen a través de la linfa. La fosfatidilcolina es hidrolizada en el lumen intestinal por fosfolipasas A2 pancreáticas e intestinales para formar liso fosfatidilcolina. Los enterocitos absorben este producto mediante difusión pasiva, una parte importante del cual es reaclada para formar nuevamente fosfatidilcolina y posteriormente ser secretada a la linfa como partículas de quilomicrones. Por otra parte, liso fosfatidilcolina absorbida es hidrolizada por una

libre es una base orgánica muy higroscópica. La colina puede ser acetilada, fosforilada, oxidada o hidrolizada. Es el precursor de distintos compuestos tales como la fosfocolina, la fosfatidilcolina, la esfingomiéline, la glicerofosfocolina y la acetilcolina. El catabolismo de estas moléculas genera metabolitos fundamentales para el correcto funcionamiento celular como son la lisofosfatidilcolina, la lisoesfingomiéline, el diacilglicerol, la ceramida o la esfingosina. (Fernández, 2012)

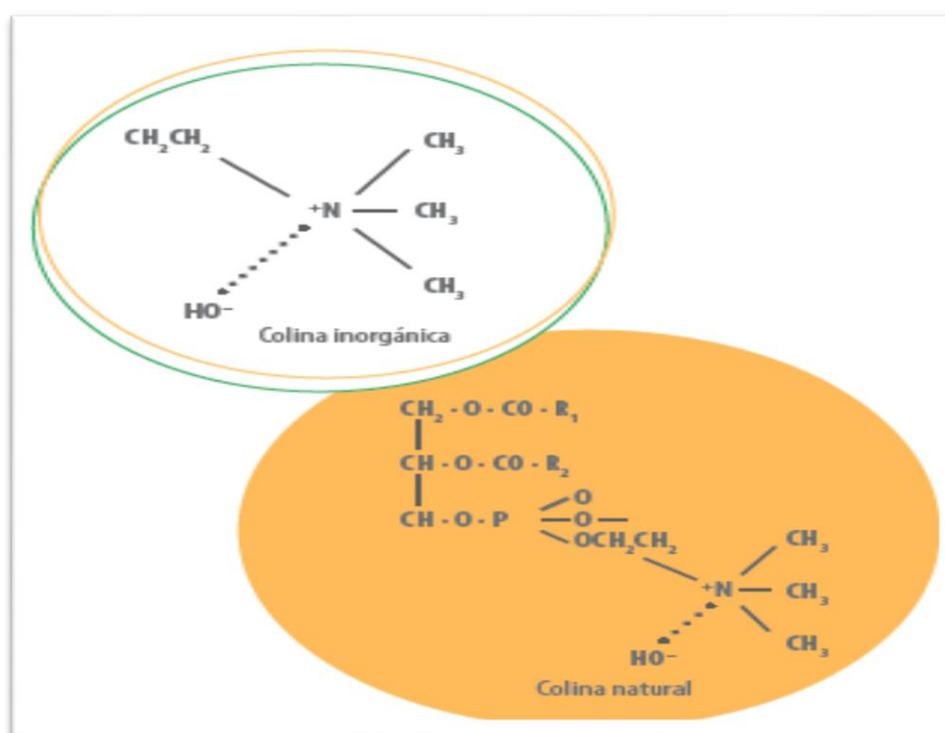


Figura 3. Estructura química de la colina natural y de la colina inorgánica
Fuente: (Fernández, 2012)

2.1.2. Síndrome de hígado graso en ponedoras

Es una condición que solamente afecta a las gallinas. La causa básica es el exceso de energía en la dieta. Las gallinas ponedoras en jaulas se ven más afectadas porque no pueden hacer suficiente ejercicio para gastar el exceso de energía de la dieta.

La mortalidad varía considerablemente entre grupos y en algunos casos puede llegar a ser excesiva. Entre las lesiones se incluyen la acumulación de gran cantidad de grasa abdominal, hígados dilatados y fácilmente lesionables y la presencia de coágulos de sangre que indican que antes de la muerte se produjeron hemorragias.

La muerte es producida, usualmente, por una hemorragia interna, originada en alguna parte del hígado. Esta hemorragia muchas veces se produce cuando la gallina se está esforzando en poner el huevo. El tratamiento primario para este síndrome requiere un cambio de dieta o de la cantidad de energía que consume la gallina. El reemplazo de parte del maíz por algún otro alimento de menos energía, como el afrecho, puede producir esa dieta de menor energía. Si se están sirviendo raciones completas para ponedoras, puede ser beneficioso agregar vitaminas. Si el principal alimento es el grano, se sugiere que se cambie a las aves a una dieta completa. El control de la grasa corporal es la única solución para este síndrome y lo mejor es acompañarlo con la regulación y reducción del consumo de energía. (Houriet, 2007)

2.1.3. Formación de trimetilamina en ponedoras a partir de cloruro de colina

Industrialmente se lleva a cabo una reacción química entre metanol y amoníaco, que da lugar a la formación de trimetilamina, a la cual posteriormente se hace reaccionar con óxido de etileno originando la colina. (FEDNA, 2017)

Según Blanch (2016) se recomienda que los productos de cloruro de colina contengan niveles inferiores a 200-300 mg/kg de trimetilamina. Sin embargo, a pesar de que los productos sigan esta recomendación, una vez que el cloruro de colina ingresa al intestino del ave, tan solo un tercio de la colina es absorbida y el resto da paso a la formación de trimetilamina por acción del metabolismo de la microflora. (Blanch, 2016)

Toda la trimetilamina generada por dicho proceso es absorbida por la sangre y llevada hacia los tejidos. Esto reduce la actividad de la flavina mono oxigenasa 3, afectando el metabolismo hepático de las aves. (Blanch, 2016)

Por esta razón en los últimos años se ha extendido el uso de biocolina en explotaciones avícolas, debido a que esta es una colina de origen natural, con gran afinidad por los receptores intestinales disminuyendo notablemente la formación de trimetilamina por acción microbiana. (Blanch, 2016)

2.1.4. Cloruro de colina y BioCholine

Es bien reconocido que la estabilidad de las vitaminas en los alimentos y en las pre-mezclas puede verse afectada seriamente por la presencia de agua, de altas temperaturas y/o de radiación ultravioleta. La BioCholine®, muestra ciertas ventajas ante estos inconvenientes, es un producto no higroscópico y termo estable (procesos de peletizado), por lo tanto, no acumula agua al estar en contacto con el pienso y/o las pre-mezclas. En el caso de las sales de colina, estos productos son altamente higroscópicos o con una alta capacidad para retener el agua de medio ambiente.

Igualmente se sabe que el cloruro de colina, es un compuesto que puede conducir a la destrucción oxidativa de las vitaminas en el pienso o pre-mezclas (Whitehead, 2000). De hecho, a menudo el cloruro de colina no se añade a las pre-mezclas de vitaminas debido este efecto de favorecer la pérdida su actividad. (Singh & Muruganandam, 2010)

Una forma de mejorar la estabilidad de las vitaminas en los piensos y pre-mezclas, es evitar que la humedad y la temperatura en la mezcla se incremente.

La Tabla 1 muestra como la actividad de varias vitaminas se reduce en mezclas que contenían cloruro de colina al ser sometidas a diversas temperaturas, en el caso de las mezclas con BioCholine este efecto no es evidente.

Tabla 1

Perdida de la actividad de las vitaminas en una mezcla sometida a diversas temperaturas

	Control			Cloruro De Colina 60%			Biocholine®		
	TA*	40°C	45°C	TA	40°C	45°C	TA	40°C	45°C
Tiamina	16.8	30.4	33.0	70.0	78.9	79.0	18.3	40.4	34.6
Vit. E	18.7	30.6	40.8	44.4	55.6	60.0	25.0	30.0	33.3
Piridoxina	17.9	35.7	38.2	28.8	62.5	63.8	22.3	30.1	32.0
Ácido Fólico	10.3	29.4	38.7	25.0	60.0	63.8	18.3	32.7	34.6
Vit. B12	6.3	7.8	15.1	36.1	57.0	83.7	12.3	15.1	19.8
Riboflavina	3.0	15.9	18.4	34.1	31.8	43.2	8.0	11.0	11.0
Vit. C	14.3	14.3	24.8	11.1	43.2	47.7	11.1	14.0	11.1

Nota: *TA = temperatura ambiente.

Fuente: (Brijpal et al., 2010)

2.1.4.1. Eficacia de la BioCholine en dietas para aves

A continuación, se describen los resultados de pruebas de la eficacia de la BioCholine para sustituir el cloruro de colina 60% en condiciones experimentales y pruebas de campo.

Se realizó un experimento en una Universidad en Brasil con pollos de engorde (Cobb 500), el objetivo fue evaluar la eficacia de la Biocholine para remplazar el cloruro de colina 60% en la dieta. Se utilizó un arreglo factorial, dos fuentes de colina (BioCholine y cloruro de colina 60) y

cinco dosis (BioCholine 100-300, incrementos de 50ppm y cloruro de colina 400-800, incrementos de 100).

Los resultados de este estudio confirmaron que la BioCholine® puede utilizarse para reemplazar diferentes niveles de cloruro de colina 60% en dietas para pollos de engorda, sin afectar la productividad de las aves (Tabla 2 y 3). De hecho, en este estudio, la BioColina aumentó la ganancia de peso al incrementar el consumo de alimento de las aves durante la fase de crecimiento.

Tabla 2

Resultados de los parámetros productivos de los pollos de engorda en la fase de iniciación (1- a 21-d)*

Efectos Principales (Promedio)	PV 21-d, g/Ave	Gp, g/Ave	CA, g/Ave	ICA,g/g	Viabilidad, %
Cloruro De Colina 60%	769	727	1201	1,654	98,1
Biocholine	785	743	1204	1,621	98,0
Cv%	4,17	4,41	4,37	2,48	2,90

Nota: *PV = Peso vivo final; GP = ganancia de peso; CA = consumo de alimento; ICA = índice de conversión alimenticia.

Tabla 3

Resultados de los parámetros productivos de los pollos de engorda en la fase de crecimiento (22- a 42-d)*

Efectos Principales (Promedio)	PV 42-d, g/Ave	Gp, g/Ave	CA, g/Ave	ICA,g/g	Viabilidad, %
Cloruro De Colina 60%	214 ^B	1450 ^A	2570 ^A	1.779	94.2
Biocholine	2292 ^A	1601 ^B	2792 ^B	1.747	97.0
Cv%	5,30	7,92	6,50	3.79	5.56

Nota: A, B Dentro de la columna, las letras diferentes son estadísticamente significativas (P<0.05)

*PV = Peso vivo final; GP = ganancia de peso; CA = consumo de alimento; ICA = índice de conversión alimenticia.

2.1.5. Pollos de engorda, prueba de campo (datos sin publicar)

Se realizó una prueba comercial a gran escala en una empresa integradora de pollo de engorda en Brasil. Las aves fueron alimentadas con BioCholine o cloruro de colina como única fuente de colina. Los grupos 4 y 5 incluyeron BioCholine a 200g/tonelada de alimento, que representaba

1/3 de la dosis de cloruro de colina 60%. Las aves fueron alimentadas progresivamente a lo largo de un periodo de tiempo que incluyo los meses de diciembre de 2010 a diciembre de 2011. Los resultados finales del comportamiento productivo de las aves se resumen en la tabla 4.

Los datos de esta prueba no fueron sometidos a un análisis estadístico debido al planteamiento o diseño. Sin embargo, los resultados mostraron un comportamiento productivo similar para las dos fuentes de colina, en el caso de la BioCholine se utilizó una dosis o tasa de sustitución de 1:3 para la BioCholine y cloruro de colina, respectivamente.

Tabla 4

Comportamiento productivo de los pollos de engorde alimentados con BioCholine® o cloruro de colina 60%

Grupo	Fuente De Colina	N	Días	GPD, g	PVP, g	ICA, g/g	CAI, Kg	Mortalidad %
1	Cloruro De Colina	52,000	41.65	61.20	2,549	1.71	4.36	4.07
2	Cloruro De Colina	52,000	45.51	62.49	2,844	1.63	4.64	3.33
3	Cloruro De Colina	52,000	40.12	62.40	2,503	1.57	3.93	3.34
4	Biocholine	52,000	40.44	65.73	2,658	1.58	4.20	3.50
5	Biocholine	50,000	39.86	65.32	2,604	1.55	4.04	3.13
6	Cloruro De Colina	50,000	45.63	64.15	2,927	1.65	4.83	3.98

2.1.6. Gallinas de postura

Se realizó un experimento donde se evaluó la capacidad de la BioCholine® para remplazar el cloruro de colina y la biotina en la dieta de gallinas ponedoras. Los resultados del experimento (Tabla 5), mostraron que la BioCholine® fue capaz de proporcionar colina suplementaria a las gallinas ponedoras para poder mantener una producción de huevos y una eficiencia alimenticia similar a las dietas suplementadas con cloruro de colina y cloruro de colina más biotina.

Tabla 5

Comportamiento productivo de gallinas ponedoras HyLine alimentadas con cloruro de colina, cloruro de colina más biotina o BioCholine® suplementada en la dieta

Dieta	Dosis, Kg/ton	Postura, %	Peso de Huevo, g	Masa de Huevo, g	Índice de Conversión
Control	0	88.75 ^a	58.56	52.0	1.77 ^a
Cloruro de Colina 60 %	0.75	90.85 ^b	58.82	53.3	1.72 ^a
Cloruro de Colina + Biotina	0.75 + 0.25	92.13 ^b	58.67	54.06	1.69 ^b
BioCholine	0.375	91.85 ^b	59.28	54.45	1.66 ^b
BioCholine	0.750	91.99 ^b	58.66	53.96	1.69 ^b

Nota: ^{a,b} Dentro de la columna, las letras diferentes son estadísticamente significativas (P<0.05)

CAPÍTULO III

MATERIALES Y METODOS

3.1 Ubicación del lugar de investigación

La presente investigación se llevó a cabo en las instalaciones del Proyecto avícola de la Carrera de Ingeniería Agropecuaria de la Universidad de Las Fuerzas Armadas ESPE IASA, a una altura de 2740 msnm, bajo las siguientes coordenadas geográficas: Latitud Sur: 00° 23'36.83"; Longitud Oeste: 78° 24'47.10".

3.1.1 Ubicación Ecológica

La Hacienda el Prado está ubicada en la zona de vida Bosque Húmedo Montano, a una altitud de 2748 msnm, tiene una temperatura promedio anual de 13,89 °C, una precipitación de 1285 mm/año y humedad relativa: 69,03%

3.1.2 Características climáticas

Temperatura media anual: 7.88 °C – 20.16°C

Precipitación media anual: 1327.58 mm/año

Humedad relativa: 69,03%

Fuente: Estación meteorológica IASA

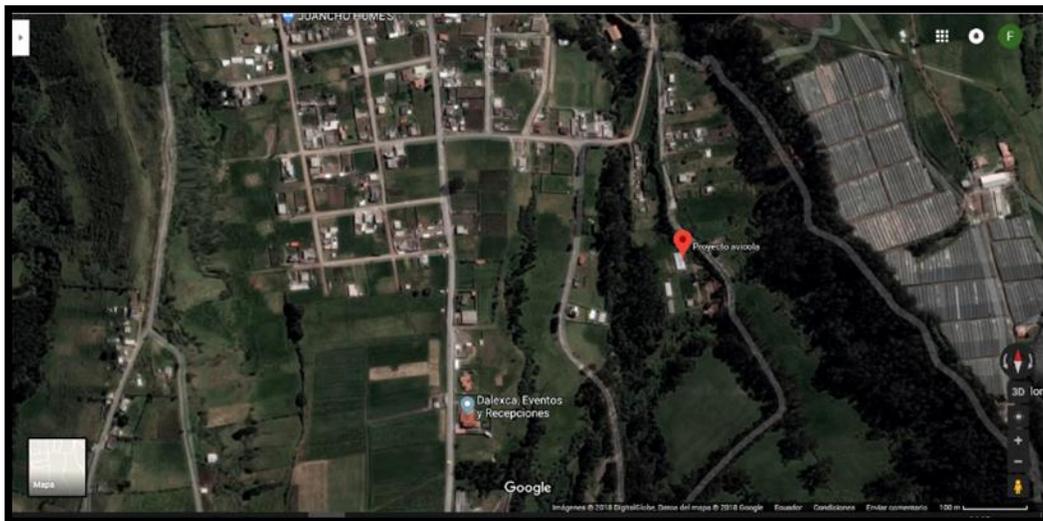


Figura 4. Mapa de ubicación de Espe- Iasa
Fuente: (Google maps, 2018)

3.2 Materiales y Equipos

3.2.1 Materiales de campo

Los materiales utilizados para este estudio fueron:

- Galpón Experimental
- Sistema de jaulas en pisos suspendidos

- Sistema de bebederos
- Sistema de comederos
- Sistema de ventilación
- Registros
- Libreta de campo
- Cubetas de huevos
- Gallinas (Lohman Brown – Classic)
- Alimento concentrado
- Colina Natural (Biocholine Powder)
- Cloro al 5%
- Desinfectantes Stock.
- 300 gallinas ponedoras de línea Lohman Brown – Classic en tercera fase de producción, alojadas en un sistema de pisos suspendidos que estaban divididos en jaulas que contenían 5 gallinas, se utilizaron un total de 60 jaulas con bebederos individuales y comederos separados.

3.2.2 Materiales y equipos de laboratorio

- Cámara fotográfica
- Computadora
- Balanza Analítica
- Calibrador Pie de rey
- Analizador de calidad de Huevos NABBEL DTE 6000
- Medidor de Cloro
- Guante quirúrgicos N° 8

- Equipo de disección.
- Frascos con cierre hermético rotulado (muestras de hígado)
- Formol al 37% 100 ml.
- Agua destilada 900 ml.
- Kennel de transporte de muestras

3.3 Metodología

3.3.1 Toma de muestra

Una vez finalizado el periodo de estudio de la investigación, se tomó dos muestras a cada uno de los tratamientos con Biocholine Powder dando un total de 8, un ave tomada al azar de un lote de 75 gallinas ponedoras de la línea Lohman Brown – Classic distribuidas en 15 jaulas, 5 aves por jaula. Para ser sacrificadas con el fin de extraer un fragmento de hígado de cada gallina, para posterior ser colocadas cada muestra en un frasco universal de boca ancha rotulados que contenía formol al 10%, se cercioró que la solución de formaldehído al 37% en solución al 10% (100 ml de formol en 900 ml de agua) cubra todo el fragmento de hígado extraído completamente, las muestras extraídas se colocaron en un Kennel de transporte sin refrigeración ni congelación ya que no requería este tipo de cadena de frío para la muestra ingresando al laboratorio en menos de 24 horas.

3.3.2 Análisis de Laboratorio

Se ingresó 8 muestras con fragmento de hígado de gallinas ponedoras de la línea Lohman Brown Classic de 69 semanas de edad al Centro de Diagnóstico Clínico Veterinario ANIMALAB CIA. LTDA ubicado en las Av. Pablo Guarderas y Mariana de Jesús en Machachi Cantón Mejía con numero de caso A-0988-17 para el análisis histopatológicas con el fin de determinar las características macroscópico y microscópico de los hígados de la gallina ponedoras en su tercera fase de producción.

3.4 Factores en estudio

Se estudió el efecto de la adición en la dieta de colina natural (Biocholine Powder) en los tratamientos sobre los parámetros productivos y condición hepática de las aves. Así mismo se realizó una valoración económica de los tratamientos para determinar el más eficiente en términos económicos, mediante el análisis de costos fijos y variables.

3.5 Diseño experimental

3.5.1 Tipo de diseño

Se utilizó aves de postura comercial de la línea genética Lohmann Brown, de una edad de 60 semanas de edad, para lo cual bajo un diseño completamente al azar (DCA) en forma aleatoria se distribuyó los diferentes tratamientos y sus respectivas repeticiones (5 Tratamientos con 4 repeticiones y un tamaño de unidad experimental de 5 aves) por un lapso de tiempo de 60 días, tiempo en el cual se les suministró los diferentes tratamientos en el alimento a una razón de 120 gr/ave/día

3.5.2 Características de los tratamientos para los bloques

En primera instancia por el lapso de 8 días se suministró en forma diaria el alimento previamente pesado y mezclado con las diferentes dosis de colina en los respectivos tratamientos para acondicionar a las aves a los tratamientos, posteriormente luego de este proceso de

adaptación diariamente se abrió registros por cada tratamiento, para en estos, ir registrando las variables productivas

El alimento concentrado se elaboró en la planta de alimentos de la Carrera de Ingeniería Agropecuaria, bajo la formulación y matrización nutricional convencional a base de maíz – soya que se viene usando acorde al estado fisiológico y requerimiento de las aves, siendo una dieta iso calórico, iso proteico e iso fosfórico de tal manera que no altere los resultados productivos.

Transcurridos los 60 días de duración del experimento se sacrificó dos aves por tratamiento para la obtención de hígados, los cuales fueron analizados mediante cortes histológicos para determinar la condición hepática, peso, consistencia y porcentaje de inclusión de grasa a nivel de hepatocitos, lo que permitiría discriminar el efecto de los tratamientos siendo el de menor porcentaje de inclusión de grasa en hígado el mejor tratamiento y el de mayor presencia el peor.

3.5.3 Variables en estudio

La presente investigación estuvo conformada por las variables propuestas como son: % de postura, masa del huevo, conversión alimenticia por docena de huevos, ganancia de peso y % de mortalidad de ser el caso.

Para esta investigación se aplicó un diseño experimental completamente al azar con 15 repeticiones por experimento.

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \epsilon_{ijk}$$

Donde:

- Y_{ijk} = Valor del parámetro en determinación
- μ = Media general

- α_i = Efecto de los tratamientos (Niveles de inclusión de colina natural)
- ϵ_{ijk} = Efecto del error experimental

Tabla 6*Esquema del experimento a emplearse*

Niveles De Inclusión Colina Natural	Código	Repeticiones (Número De Jaulas)	Número De Aves Por Repetición	Aves Totales Por Tratamiento
0% De Inclusión	T0	15	5	75
160 gr/Tn	T1	15	5	75
240 gr/Tn	T2	15	5	75
320 gr/Tn	T3	15	5	75
Total De Aves Empeladas En El Experimento				300

- T0 = Testigo, alimento sin inclusión de fosfatidilcolina.
- T1 = Alimento con inclusión de 160 gr/Tn de BioCholine.
- T2 = Alimento con inclusión de 240 gr/Tn de BioCholine
- T3 = Alimento con inclusión de 320 gr/Tn de BioCholine

3.5.4 Factores de estudio y tratamientos

Se evaluaron el efecto de tres niveles de inclusión de colina natural, en el alimento concentrado de gallinas de postura comercial.

El alimento concentrado fue elaborado con el 15% PB, 2850 Kcal E.M y el 3,5% P; fue elaborado en la planta de alimentos concentrados de la Carrera de Ingeniería Agropecuaria IASA I. Cubriendo los requerimientos nutricionales de las aves, además de ser incluido los diferentes niveles de colina natural.

3.5.5 Unidades experimentales

La unidad experimental consistió en una jaula de 45 cm de ancho x 45 cm de largo y una altura de 40 cm, donde estuvieron alojadas 5 gallinas Lohmann.

Brown en tercera fase de producción, con un peso promedio de 1900-2000 gramos. Cada tratamiento consto de 15 repeticiones (jaulas) distribuidas aleatoriamente en los 3 pisos del módulo.

3.5.6 Croquis del diseño

P	t0	t2	t3	t1	t3	t3	t2	t2	t3	t0	t2	t2	t3	t0	t3	t2	t0	t1	t1	t1
r	r1	r2	r3	r1	r5	r6	r6	r7	r8	r6	r10	r11	r11	r10	r13	r14	r13	r10	r11	r13
1																				
P	t3	t0	t0	t2	t1	t2	t0	t2	t1	t0	t3	t2	t1	t2	t0	t3	t0	t2	t1	t1
r	r1	r2	r3	r4	r2	r5	r5	r8	r5	r7	r10	r12	r7	r13	r11	r14	r14	r15	r12	r14
2																				
P	t2	t3	t2	t3	t0	t1	t1	t3	t3	t2	t0	t1	t0	t3	t1	t0	t1	t3	t0	t1
r	r1	r2	r3	r4	r4	r3	r4	r7	r9	r9	r8	r6	r9	r12	r8	r12	r9	r15	r15	r15
3																				

Jaulas

Figura 5. Esquema del experimento

3.5.7 Análisis Estadístico

Los resultados obtenidos fueron procesados en el Software InfoStat, en donde se realizó las siguientes pruebas estadísticas:

Se realizó el análisis de varianza y la prueba de significancia según el modelo prueba mínima de diferencias (LSD) Fisher a un nivel $\alpha=0,05$; con un 95% de confiabilidad y para la evaluación económica se hizo un análisis marginal.

3.5.7.1 Esquema de análisis de varianza

En la investigación se utilizó un DCA con cuatro tratamientos, 15 repeticiones y la unidad experimental consta de 5 aves, el esquema fue el siguiente:

Tabla 7

Análisis de varianza para un DCA con cuatro tratamientos y 15 repeticiones

Fuentes De Variación	Desglose De Los Grados De	Grados De Libertad
----------------------	---------------------------	--------------------

Libertad		
Niveles De Inclusión De Colina Natural	4-1	3
Error	60-4	56
Total	60-3	57

El modelo matemático corresponde a:

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

Donde:

- μ = media poblacional
- T_i = efecto del i-ésimo tratamiento
- e_{ij} = error experimental

3.5.8 Coeficiente de variación

Para calcular el coeficiente de variación se utilizará la siguiente fórmula:

$$CV = \frac{\sqrt{CME}}{x} * 100 C$$

Donde:

- CV: Coeficiente de Variación
- CME: Cuadrado Medio del Error
- X: Media Variables

Las variables se midieron de acuerdo a los objetivos planteados en la investigación y se determinaron de la siguiente manera:

3.5.9 Mortalidad y Viabilidad

Se anotó la mortalidad acumulada durante la investigación. El porcentaje de mortalidad se obtuvo de la siguiente forma:

$$Mortalidad\ Acumulada = \frac{Total\ de\ aves\ muertas}{Numero\ de\ aves\ iniciales} * 100$$

La viabilidad expresa la cantidad de pollos sobrevivientes al final de la investigación, se obtuvo al restar del 100 % el porcentaje de mortalidad (Ploog, 1994), se pudo obtener de la siguiente manera:

$$Viabilidad = \frac{Cantidad\ de\ aves\ finales}{Cantidad\ de\ aves\ iniciales} * 100$$

3.5.10 Evaluación de la calidad del huevo

Para la evaluación de la calidad de huevo se empleó una cubeta de 30 huevos por tratamiento recolectado en tres etapas, a los 30, 45 y 57 días después de haber implementado el experimento. Con un total de 360 huevos que se analizaron en el medido de huevos NABBET DET 6000.

Calidad de la cáscara. – Se midió la fuerza del cascaron del huevo a través de una prensa que calcula la resistencia al romperse que va de un rango de 0.82 - 8.16kgf (8.0 - 80.0N) con una exactitud de ± 0.2 kgf. Otro parámetro para determinar la calidad del huevo fue la dureza del cascaron, se midió a través de un calibrador electrónico determinado el espesor del cascaron que va de un rango de 0.10 - 0.60mm con una exactitud de ± 0.02 mm.

Color de Yema. - Siguiendo las nuevas directrices de pigmentación de yema de huevo se utilizó un medidor digital YolkFan™, impulsado por Nix Sensor Ltd. El Digital YolkFan™ es una extensión digital del DSM YolkFan™. Proporciona la misma practicidad y colores, extendiéndolos a una herramienta automatizada. Color de yema YolkFan™ posee una escala de color: 1 – 16 con una exactitud de ± 1.0 .

Índice de la yema. –Fue calculado mediante la división de la altura de la yema entre el diámetro de la yema de huevo sobre una superficie plana. Los datos se obtuvieron mediante el uso de la DET 6000

Albúmina. - La Altura de albúmina se midió mediante el uso de la DET 6000 que va de un rango de 3.0 - 15.0 mm con una exactitud de ± 0.2 mm. Con esta medición pudimos obtener la frescura del huevo.

3.5.11 Unidades Haugh

Se determinó a través de la fórmula:

$$uH = 100 * \log(h - 1.7w^{0.37} + 7.6)$$

- uH = unidad Haugh.
- h = altura de la albúmina, en milímetros.
- w = peso del huevo, en gramos

Tabla 8

Calidad del huevo y su relación con las unidades HAUGH

Unidades Haugh	Descripción Cualitativa
100	
90	Excelente
80	Muy Bueno
70	Aceptable
65	Marginal
60	Resistencia Del Consumidor
55	Potable
50	Inaceptable

Fuente: (Manual práctico de calidad del huevo, 2007).

En todos estos procesos de evaluación se empleó el medidor de calidad de huevos NABBET DET 6000.

3.5.12 Índice de eficiencia productiva (IEP)

Se determinó mediante la relación entre el número de huevos puestos en un día y el número de gallinas existente para ese mismo día, multiplicado por cien, para expresarlo en porcentaje.

3.5.13 Costo de las Dietas

Se obtuvo al sumar el costo de los ingredientes por tonelada del balanceado más el costo de colina natural en las diferentes dosis por tratamiento.

3.5.14 Análisis económico

Al final se realizó un análisis marginal para cual se determinaron los costos variables de cada tratamiento, el beneficio bruto se obtuvo al sumar los huevos de cada tratamiento y multiplicar por el precio del mercado. De la diferencia entre el costo variable y el beneficio bruto obtuvimos el beneficio neto.

Al colocar los beneficios netos por orden descendente acompañado de los costos variables se hizo un análisis de dominancia. Con los tratamientos no dominados se realizó un análisis marginal donde se calculó la tasa de retorno marginal para cada tratamiento con lo cual permitió determinar el tratamiento más eficiente económicamente.

3.5.15 Métodos Específicos de Manejo del Experimento

La investigación fue experimental y aplicada, con el objetivo de valorar la respuesta productiva de la inclusión de diferentes niveles de colina natural (0 – 160 - 240 y 320 mg/Tn) en dietas alimenticias de gallinas de postura. En este caso, se utilizó 300 gallinas Lohmann Brown a partir de la semana 60 (fase 3) de producción, con un peso promedio de 2000 gramos, distribuidas en cuatro tratamientos (75 aves en cada uno), con 15 repeticiones. El tamaño de la Unidad Experimental estuvo compuesto de 5 aves.

3.5.16 Histología de hígado

Al final del experimento 69 semanas de edad de las gallinas, se recogieron los hígados de dos aves de cada tratamiento, para los análisis macroscópicas e histológicas. En el análisis se ha evaluó, la coloración y la consistencia. Después de las evaluaciones macroscópicas, se confeccionaron láminas histológicas para diagnóstico morfológico microscópico de los hígados recogidos, donde se evaluaron los escores de degeneración grasosa, siendo clasificados como: normal, multifocal (leve, moderada o acentuada) o difusa (leve, moderada o acentuada).

Con los resultados de los exámenes macroscópicos e histopatológicos de los hígados se realizó La prueba de Kruskal-Wallis, H es una prueba no paramétrica que se utiliza en lugar de un ANOVA de una vía. Básicamente, es una extensión de la prueba de rango de suma de Wilcoxon a más de dos muestras independientes.

Aunque, como se explica en Suposiciones para ANOVA, la ANOVA de una vía suele ser bastante robusto, hay muchas situaciones en las que las suposiciones son suficientemente violadas, por lo que la prueba de Kruskal-Wallis se vuelve bastante útil: en particular, cuando:

La muestra grupal se desvía fuertemente de la normal (esto es especialmente relevante cuando los tamaños de muestra son pequeños y desiguales y los datos no son simétricos)

Las variaciones de grupo son bastante diferentes (especialmente cuando hay valores atípicos significativos)

Algunas características de la prueba de Kruskal-Wallis son:

- No se hacen suposiciones sobre el tipo de distribución subyacente.

- Sin embargo, se supone que todos los grupos tienen una distribución con la misma forma (es decir, una versión más débil de la homogeneidad de las varianzas).
- No se estiman parámetros de población (por lo que no hay intervalos de confianza).

Estadística de prueba de Kruskal-Wallis

$$H = \frac{12}{n(n+1)} \sum_{j=1}^k \frac{R_j^2}{n_j} - 3(n+1)$$

Donde:

- k = el número de grupos,
- n_j es el tamaño del grupo
- (jth) j-ésimo, R_j es la suma de rango para el grupo (jth) j-ésimo y
- n es el tamaño total de la muestra, es decir

$$n = \sum_{j=1}^k n_j$$

Entonces:

$$H \sim \chi^2(k-1)$$

Siempre que $n_j \geq 5$ en base a la siguiente hipótesis nula:

H_0 : la distribución de puntajes es igual en todos los grupos

Observación: si se cumplen los supuestos de ANOVA, entonces la prueba de Kruskal-Wallis es menos poderosa que ANOVA.

Una expresión alternativa para H está dada por:

$$H = \frac{12}{n(n+1)} SS'_B$$

Donde SS'_B es la suma de cuadrados entre grupos usando los rangos en lugar

$$\frac{12(k-1)}{n(n+1)}$$

de datos brutos. Esto se basa en el hecho de que es el valor esperado (es decir, la media) de la distribución de SS'_B .

Si hay tamaños de muestra pequeños y muchos vínculos, una estadística de prueba de Kruskal-Wallis corregida $H' = H / T$ arroja mejores resultados donde

$$T = 1 - \frac{1}{n^3 - n} \sum (f^3 - f)$$

Aquí la suma se toma sobre todos los puntajes donde existen vínculos y f es la cantidad de vínculos en ese nivel.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSION

4.1 Parámetros productivos

4.1.1 Número de huevos

En la tabla 9 se muestra el número de huevos de gallinas alimentadas con diferentes niveles de biocolina encontrándose que no existe diferencias significativas entre tratamientos $p=0,4839$.

Según Chen et al. (2007) realizó pruebas en diferentes niveles de fosfadilcolina (750 y 350 gr/tn) en gallinas ponedoras encontrando como resultado que no existe variación en la producción de huevos.

Los valores encontrados en las diferentes variables productivas se vieron influenciadas por las condiciones medioambientales y de manejo y esto tuvo repercusión en el factor del tiempo a lo largo del experimento. El número de huevos de las gallinas tratadas con las dosis de biocolina según los tratamientos, figura 6.

Tabla 9

Promedios \pm EE del número de huevos semanales de gallinas alimentadas con diferentes dosis de biocolina

Tratamiento	Número De Huevos	SEM
0	31,64	\pm 0,3 a
160	32,1	\pm 0,3 a
240	32,14	\pm 0,3 a
320	31,81	\pm 0,3 a
P- Valor	0,4839	

Nota: Letras Diferentes En La Misma Fila Indican Diferencias Significativas $P < 0,05$. SEM Error Estándar

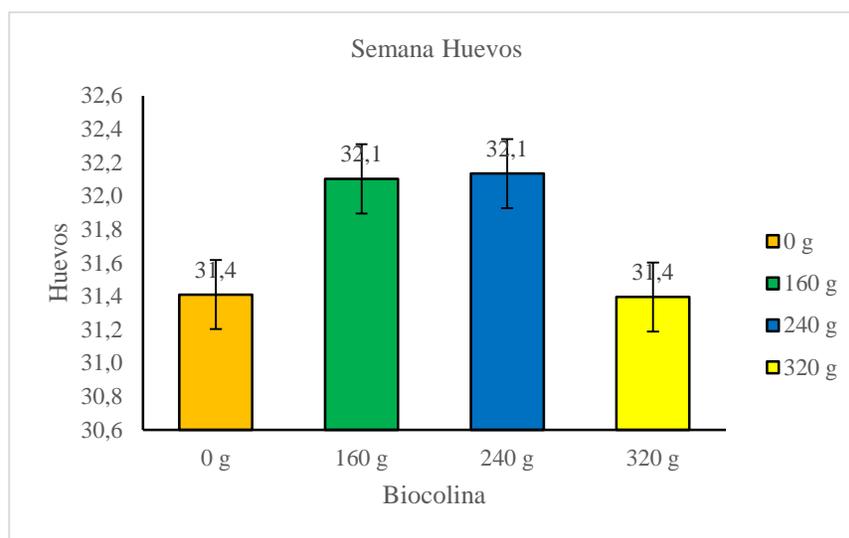


Figura 6. Número de huevos por tratamiento

4.1.2 Peso en gramos

Tabla 10

Promedios ± EE del peso semanal de huevos semanales de gallinas alimentadas con diferentes dosis de biocolina

Tratamiento	Peso Semanal	SEM
0	59,96	± 0,5 a
160	60,43	± 0,5 a
240	60,61	± 0,5 a
320	60,29	± 0,5 a
<i>p- valor</i>	0,8473	

Nota: Letras diferentes en la misma fila indican diferencias significativas $p < 0,05$.
SEM Error estándar

En la tabla 10 se puede verificar que no existe diferencias entre tratamientos ($p=0,8473$) donde el tratamiento de las gallinas alimentadas con 240 g/Tn obtuvieron mayor peso con (60,61 g)

Según Gabriel et al. (2015) menciona que al utilizar fosfadilcolina en los pollos broilers disminuyo la mortalidad a su vez aumento la ganancia de peso.

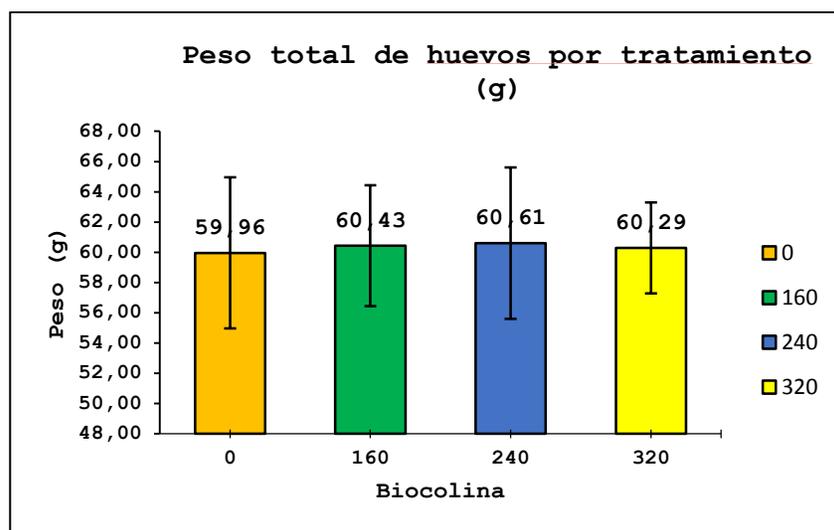


Figura 7. Peso en gramos de huevos

4.1.3 Porcentaje de postura

Tabla 11

Promedios ± EE del % de postura de gallinas alimentadas con diferentes dosis de biocolina

Tratamiento	% Postura	SEM
240	91,82	± 0,74 a
160	91,72	± 0,74 a
320	90,87	± 0,74 a
0	90,41	± 0,74 a
<i>p-valor</i>	0,4832	

Nota: Letras diferentes en la misma fila indican diferencias significativas $p < 0,05$.

SEM Error estándar

El porcentaje de postura de las gallinas alimentadas con diferentes niveles de biocolina tabla 11 no presentaron diferencias significativas ($p=0,4832$).

Durante el experimento se encontró que las gallinas alimentadas con la dosis de 240 presentaron una mayor tasa de postura con 91,82 %.

Los porcentajes de postura registraron valores superiores de los que detalla Lohmann (2007) ya que el mayor porcentaje de postura en el periodo superior a las 60 semanas fue de 95,4% alcanzado con un nivel de Biocolina de 160 mg/T, superior en un 12% a las tablas del manual Lohmann. Los porcentajes de postura obtenidos en la investigación igualmente son superiores en

comparación a los obtenidos por Chen et al., (2007) utilizando Biocholine en dosis de 375 y 750 mg/ Tn. Con porcentajes de postura de 91,85 y 91,99 respectivamente.

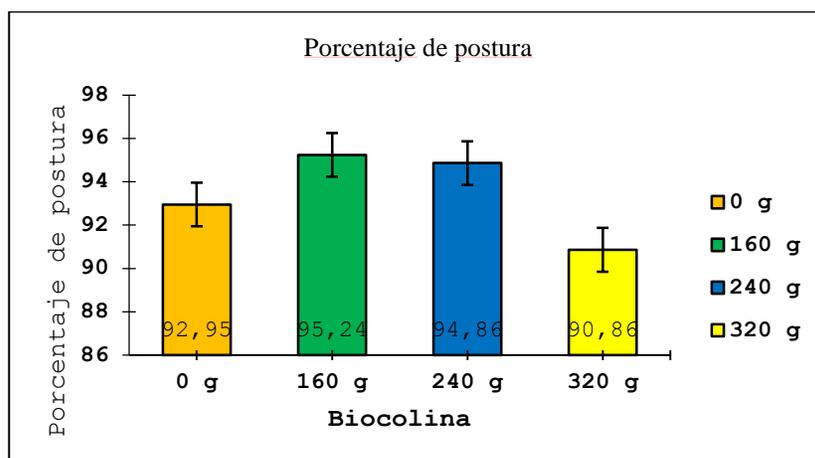


Figura 8. Porcentaje de Postura

4.1.4 Conversión alimenticia

Tabla 12

Promedios ± EE de la conversión alimenticia de gallinas alimentadas con diferentes dosis de biocolina

Tratamiento	C. A	SEM
160	1,82	± 0,01 a
240	1,82	± 0,01 a
0	1,81	± 0,01 a
320	1,81	± 0,01 a
<i>p- valor</i>	0,7856	

Nota: Letras diferentes en la misma fila indican diferencias significativas $p < 0,05$.
SEM Error estándar

El efecto de la conversión alimenticia de las gallinas que se alimentaron con diferentes dosis de biocolina no presentaron diferencias significativas ($p=0,7856$). Donde las gallinas que fueron alimentadas con una dosis de 320 mg/tn tuvieron una conversión más eficiente.

Equivalente a los manuales de postura de guías de crianza de las razas de gallinas todos los tratamientos se encuentran en intervalos normales de producción en índices de conversión alimenticia numéricamente 2 kg de alimento por un kilo de huevo.

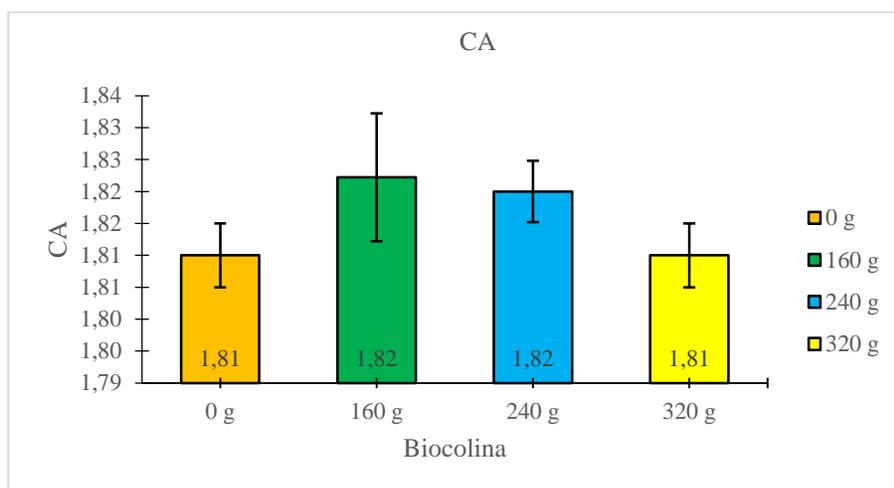


Figura 9. Conversión alimenticia

4.1.5 Masa del huevo

Tabla 13

Promedios ± EE de la masa de huevo de gallinas alimentadas con diferentes dosis de biocolina

Tratamiento	Masa Huevo	SEM
240	60,61	± 0,53 a
160	60,43	± 0,53 a
320	60,29	± 0,53 a
0	59,96	± 0,53 a
<i>p- valor</i>	0,8472	

Nota: Letras diferentes en la misma fila indican diferencias significativas $p < 0,05$.

SEM Error estándar

En la Tabla 13 se puede ver la masa de huevo de los efectos de las diferentes dosis de biocolina no existen diferencias significativas entre tratamientos ($p=0,8472$).

Sin embargo, los huevos de las gallinas alimentadas con el tratamiento donde se suministró 240 mg/tn registraron y una mayor masa de huevo.

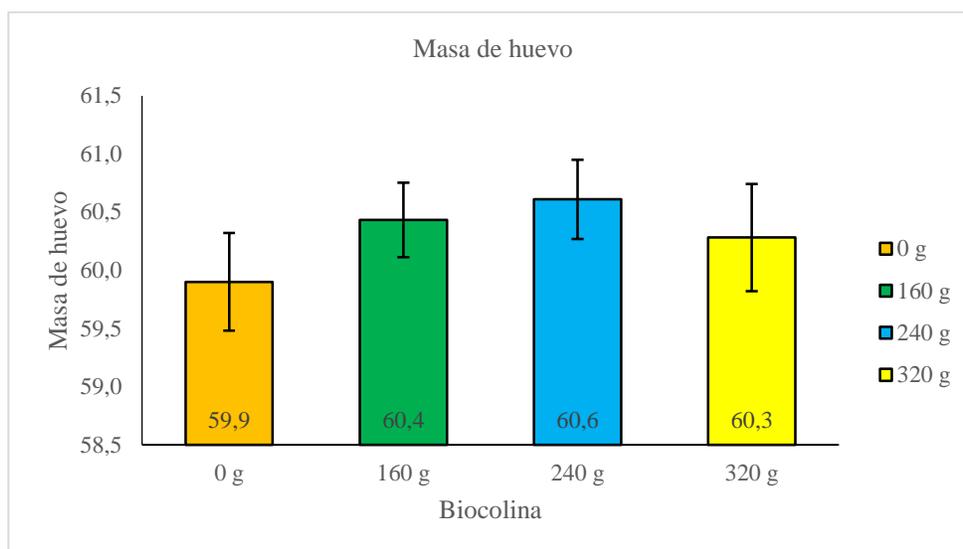


Figura 10. Masa de huevo

4.2 Propiedades huevos

Tabla 14

Promedios ± EE del peso semanal de huevos de gallinas alimentadas con diferentes dosis de biocolina

Tratamiento	Peso	SEM
240	68,95	± 0,65 a
160	68,68	± 0,65 a
320	68,37	± 0,65 a
0	67,15	± 0,65 a
<i>p- valor</i>	0,2296	

Nota: Letras diferentes en la misma fila indican diferencias significativas $p < 0,05$.
SEM Error estándar

4.2.1 Peso huevos

En la tabla 14 se puede ver el efecto de las diferentes dosis de biocolina sobre el peso de los huevos de las gallinas del experimento no se encontró diferencias significativas ($p=0,2296$). Donde la dosis de 240 mg/tn presentaron un peso superior

Según Chen et al. (2007) No se encontraron diferencias significativas en el espesor de la cáscara de huevo, la fuerza de la cáscara de huevo, la unidad de huevo Haugh, color de la yema y grosor de la clara de huevo datos que coinciden en la investigación el peso de huevo tuvo un

incremento del 4% a la séptima semana de experimento con respecto al porcentaje de postura se verifico respecto a las demás variables se pudo verificar que a cualquier nivel de inclusión de Biocolina no se registra efectos significativos.

En la investigación de Vasconcelos, Baião, N, Lara, L., Ecco,R., Machado, A., Pompeu, M. Miranda, D. (2013) donde se suplemento en la ración de postura, las aves que recibieron suplementación de colina en las fases de cría / cría presentaron mayor peso de los huevos de 22 a 38 semanas de edad que aquellas que no recibieron la suplementación.

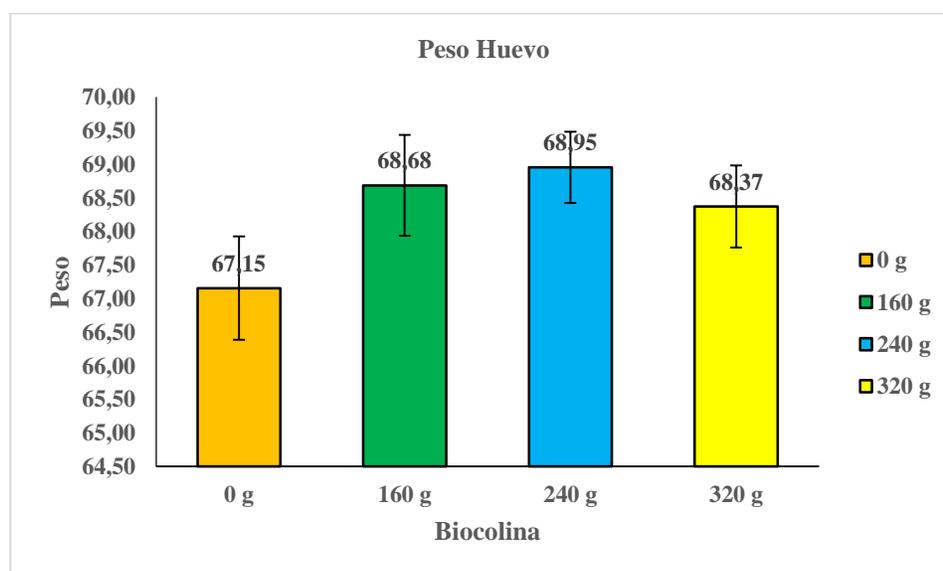


Figura 11. Peso de Huevos

4.2.2 Altura de la albumina

Tabla 15

Promedios ± EE de la altura de albumina de huevos de gallinas alimentadas con diferentes dosis de biocolina

Tratamiento	Altura Albumina	SEM
0	7,57	± 0,15 a
240	7,47	± 0,15 a
160	7,22	± 0,15 a
320	7,16	± 0,15 a
p- valor	0,1807	

Nota: Letras diferentes en la misma fila indican diferencias significativas $p < 0,05$. SEM Error estándar

En la Tabla 15 se encuentran diferencias significativas ($p=0,1807$). Entre los diferentes tratamientos del experimento, pero a una dosis de 0 mg/tn se encontró una altura de albumina superior.

Según Swanson (1980) la altura de la albumina y el peso determina la puntuación de unidades Haugh, es decir al tener mayor puntuación va a tener mejor calidad el huevo.

La altura de albumina es un índice de calidad del huevo la viscosidad de albúmina es producto de la concentración de ovomucina, en el balanceado y su disponibilidad son factores directos que determina la calidad de huevo (Hiidenhovi, Makeninen & Ryshanen, 2002), donde se verifico que la Biocolina no tiene efectos sobre la altura de la albumina.

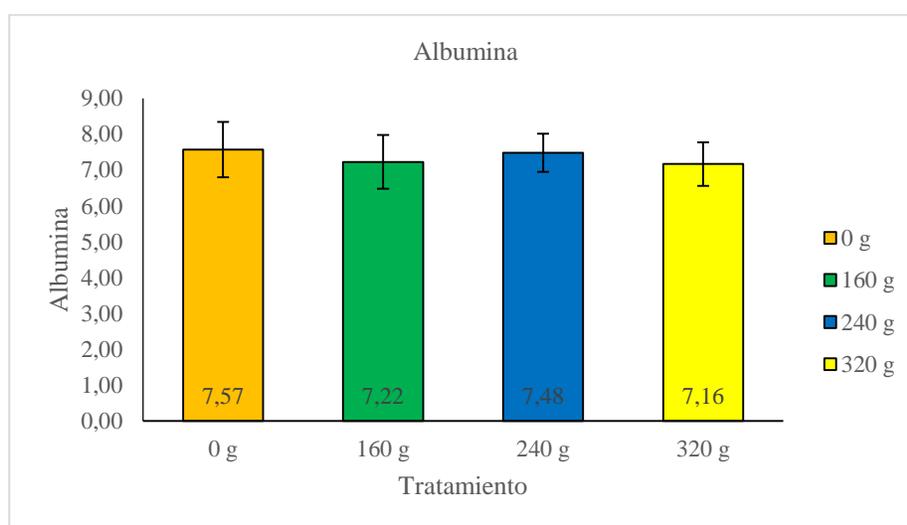


Figura 12. Altura de Albumina

4.2.3 Color de yema

Tabla 16

Promedios ± EE del color de yema de huevos de gallinas alimentadas con diferentes dosis de biocolina

Tratamiento	Coloración yema	SEM
0	8,18	± 0,1 a

CONTINUA→

240	8,04	±	0,1	a
320	8,04	±	0,1	a
160	7,97	±	0,1	a
<i>p- valor</i>	0,5369			

Nota: Letras diferentes en la misma fila indican diferencias significativas $p < 0,05$.
SEM Error estándar

No se encontraron diferencias significativas entre las dosis de Biocolina ($p=0,5369$), el mayor puntaje de coloración se registró sin una dosis de Biocolina es cuando no se aplica biocolina en la dieta.

Según Mendoza y Pino (1964) el color de la yema está determinado por la cantidad de xantofilas que se suministra en la dieta de las gallinas dentro de estas se detalla que ciertas especies marina pueden contribuir a la pigmentación, Gutton (1970) indica que 3% de inclusión de espirulina en la dieta de pollos de engorda produce una coloración similar a la de carotenoides sintéticos.

Los datos detallan que no hubo diferencias significativas entre tratamientos y esto a que la Biocolina no es un pigmento.

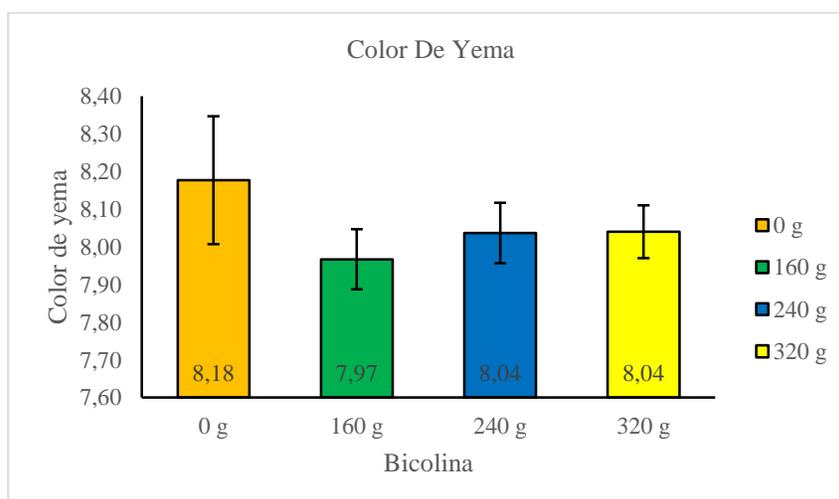


Figura 13. Color de yema

4.2.4 Unidades Haugh

Tabla 17

Promedios ± EE de grados Haugh de huevos de gallinas alimentadas con diferentes dosis de biocolina

Tratamiento	Grados Haugh	SEM		
0	84,38	±	0,97	a
240	83,26	±	0,97	a
160	81,76	±	0,97	a
320	81,18	±	0,97	a
<i>p- valor</i>	0,0936			

Nota: Letras diferentes en la misma fila indican diferencias significativas $p < 0,05$.
SEM Error estándar

El análisis de varianza para las unidades Haugh no mostro un efecto significativo para los niveles de Biocolina ($p=0,0936$) tabla 17 donde las dosis de 0 mg/tn tuvo una mayor escala en los grados Haugh.

Según INEN (2014) para medir el grado de frescura de un huevo, las unidades de los grados Haugh tienen que estar dentro de 70 a 110 UH, en el experimento se encontró que los diferentes tratamientos presentaron un rango entre 81,18 a 84,38 categorizados de calidad muy buena de frescura. (Tabla 8).

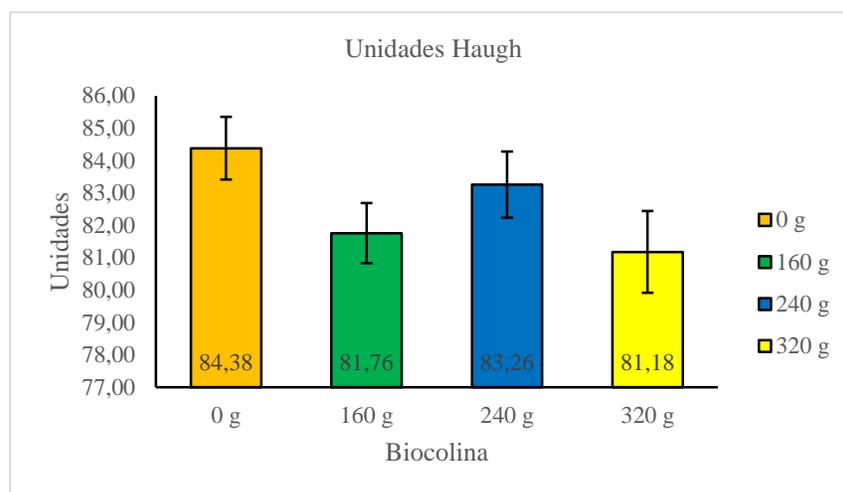


Figura 14. Unidades Haugh

4.2.5 Resistencia del cascarón

Tabla 18

Promedios ± EE de la resistencia de cascara de huevos de gallinas alimentadas con diferentes dosis de biocolina

Tratamiento	Resistencia de cascara	SEM
240	4,14	± 0,12 a
0	4,11	± 0,12 a
160	4,05	± 0,12 a
320	4,02	± 0,12 a
<i>p- valor</i>	0,8796	

Nota: Letras diferentes en la misma fila indican diferencias significativas $p < 0,05$. SEM Error estándar

En la tabla 18 se muestran los resultados del efecto de diferentes dosis de Biocolina sobre la resistencia de cascara, no se encontró diferencias significativas entre los factores ($p=0,8796$), donde se encontró que en una dosis de 240 mg/T alcanzaron una mayor resistencia.

Según Batschan (1994), la calidad de la cascara del huevo está relacionado al suministro de nutrientes y a la edad de la gallina. Así como también la cantidad de calcio que se suministre determinara el grosor y la dureza considerando a su vez las condiciones ambientales y estado de salud del animal. (Roberts, 2004)

No se encontró diferencias significativas dentro de los efectos principales de los diferentes factores ($p < 0,01$), sin embargo, para el Tiempo 2 se obtuvo la mayor resistencia de cascaron $4,26 \pm 0,1$.

Las gallinas criadas en condiciones óptimas presentan valores de resistencia de cascara de 4 kgf en el experimento se mantuvo dentro de los rangos normales de esta variable, cabe recalcar que la resistencia es inversamente proporcional a la edad de las gallinas esto según aumenta la edad de las aves.

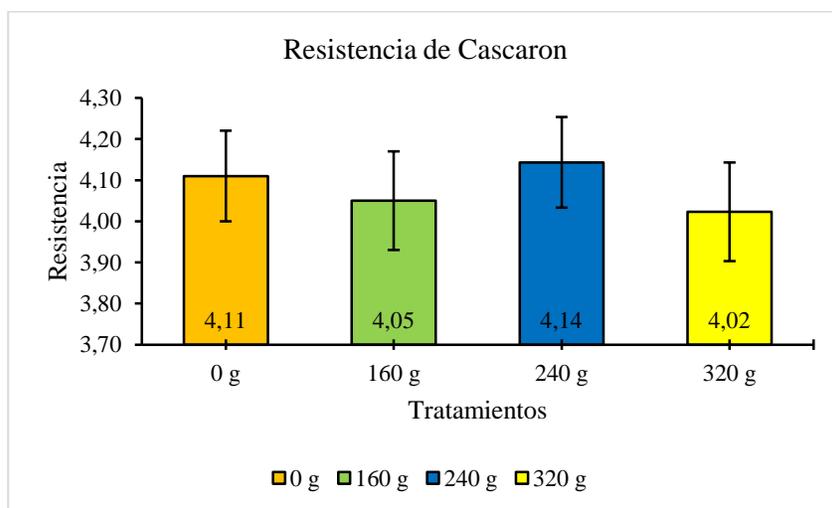


Figura 15. Resistencia de cascarón

4.2.6 Grosor del cascarón

Tabla 19

Promedios \pm EE de grosor de cascarón de huevos de gallinas alimentadas con diferentes dosis de biocolina

Tratamiento	Grosor de cascara	SEM
320	0,49	\pm 0,02 a
0	0,36	\pm 0,02 a
40	0,36	\pm 0,02 a

160 0,35 ± 0,02 a
 p- valor 0,4986

Nota: Letras diferentes en la misma fila indican diferencias significativas $p < 0,05$.
 SEM Error estándar

Los datos del grosor de cascarn se puede ver en la Tabla 19, no se encontró un efecto significativo en los niveles Biocolina ($p=0,4986$). Con una dosis de 320 mg/T se obtuvo mayor resistencia de cascarn $0,49\pm 0,04$.

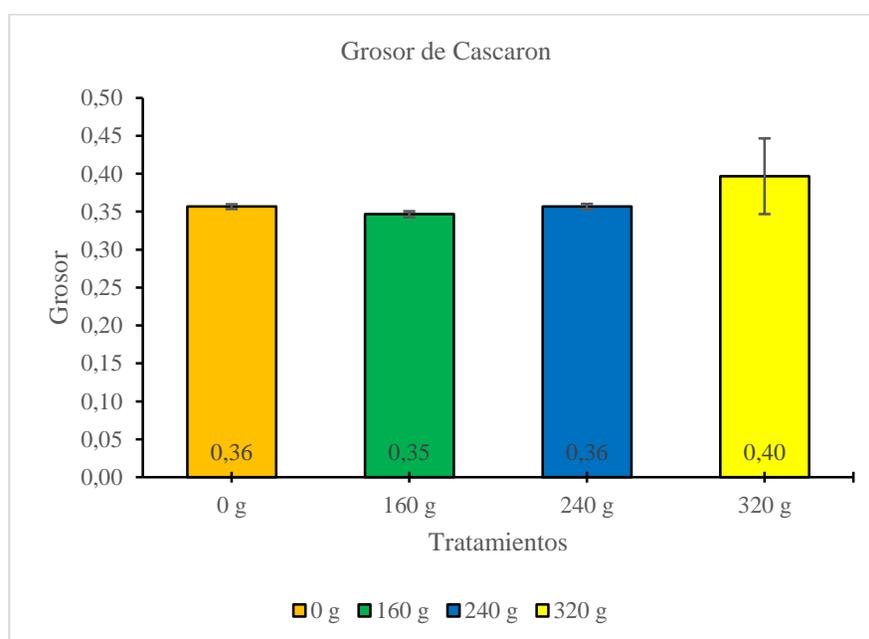


Figura 16. Grosor de Cascaron

4.3 Variables histo morfométricas

Tabla 20

Cortes histológicos examen macroscópicos

Tratamientos	Diagnostico
T ₀	Fragmento de hígado amarillento, friable, que midió 8 cm de eje mayor.
T ₀ , Testigo	Fragmento de hígado amarillento, friable, que midió 7 cm de eje mayor.
T ₁	Fragmento de hígado amarillento, friable, que midió 8.5 cm de eje mayor.
T ₁	Fragmento de hígado amarillento, friable, que midió 7 cm de eje mayor.
T ₂	Dos fragmentos de hígado, amarillentos, que midieron en conjunto 15 cm de eje mayor.
T ₂	Dos fragmentos de hígado, amarillentos, con discretas áreas de hemorragia subcapsular, que midieron en conjunto 16 cm de eje mayor.

T ₃	Fragmento de hígado amarillento, friable, que midió 7 cm de eje mayor.
T ₃	Dos fragmentos de hígado, amarillentos, con áreas de hemorragia, que midieron en conjunto 15 cm de eje mayor.

En todas las muestras se observa disociación de los cordones hepáticos, asociado a la fijación.

Tabla 21
Cortes histológicos examen microscópico

Tratamientos	Diagnostico
T ₀	Degeneración hepatocelular de gota gruesa, leve, multifocal
T ₀	Normal
T ₁	Normal
T ₁	Degeneración hepatocelular de gota gruesa, leve, multifocal
T ₂	Degeneración hepatocelular de gota gruesa, leve, multifocal
T ₂	Degeneración hepatocelular de gota gruesa, leve, multifocal
T ₃	Normal
T ₃	Normal

Los hallazgos histopatológicos observados son indicativos de una lipidosis hepática discreta. Entre las causas la literatura señala la deficiencia de biotina en pollos, excesivo consumo calórico, defectos enzimáticos hepáticos, deficiencia en la dieta de lipotrofos y daño tóxico (Schmidt, 2015. Pathology of Pet and Aviary Birds). En ponedoras y reproductoras se ha descrito el síndrome del hígado graso hemorrágico, de ocurrencia esporádica, principalmente en aves enjauladas y asociado a una excesiva ingesta calórica, más a menudo durante el verano (Saif, 2008. Diseases of Poultry).

4.4 Histológico de hígado

Se evaluaron los efectos de la suplementación de colina en dietas para gallinas ponedoras de la línea Lohman Brown Classic sobre el desempeño productivo las características macroscópicas e histopatológicas del hígado de gallinas en la tercera fase producción. Los tratamientos fueron

definidos por la suplementación de Colina natural (Biocholine Powder) - cero, 160, 240, 320 gr. de colina / Tn, durante el período de 60 días a partir de la 60 semana de edad de producción.

Tabla 22

Características macroscópicas e histopatológicas de los hígados de las Gallinas ponedoras Lohman Brown Classic en la tercera fase de Producción.

Ord.	Ident.	Colina N. Gr./Tn.	Macro ¹	Histo ²
1	T0	0	2	2
2	T0	0	2	1
3	T1	160	2	1
4	T1	160	2	2
5	T2	240	2	2
6	T2	240	2	2
7	T3	320	2	1
8	T3	320	2	1

Nota: Macro¹ Macroscópicas = escores coloración del hígado: normal= 1; ligeramente amarillento= 2; moderado amarillento= 3; intensamente amarillento= 4

Histo² Microscópicos= escores de degeneración grasosa: normal=1; multifocal ligero=2; multifocal moderado=3; multifocal acentuado=4

Valor de la mediana de los valores por el Test de Kruskal-Wallis ($P>0,05$)

En las evaluaciones de coloración, todos los tratamientos se presentaron hígados con el mismo puntaje - ligeramente amarillento - independientemente del tratamiento, por lo tanto, similares entre sí por la prueba de Kruskal-Wallis ($P> 0,05$). En las evaluaciones histopatológicas, los hígados se encuadraron de la siguiente manera: tratamiento con cero de orden uno, tratamiento 160 mg/Tn. de orden cuarto de ubicación en el listado de análisis y los dos tratamientos de 240 mg/ Tn de orden cinco y seis con suplementación de colina natural - degeneración multifocal leve; en cambio el segundo tratamiento cero de orden dos con el tratamiento de 160 mg/Tn de orden tres y los dos tratamientos de 320 mg / Tn de orden siete y ocho respectivamente- sin cambios histológicos. Hay diferencias entre las clasificaciones, los resultados se consideran diferentes entre sí por la prueba de Kruskal-Wallis ($P> 0,05$). Por lo tanto, si hubo efecto de la

suplementación de colina ($P > 0,05$) sobre las características macroscópicas e histopatológicas del hígado. Este resultado fueron diferentes a los reportado por Wolford y Murphy (1972) y M.A. Pompeu et al (2011), que no detectaron ningún cambio en el contenido de grasa en el hígado de aves que recibieron dietas suplementadas con vitaminas lipotrópicas (vitamina B12, vitamina E, **colina**, inositol), y por Pearce (por ejemplo, 1975), al verificar que la suplementación de la dieta con colina o inositol no afectó la incidencia del síndrome del hígado graso o el metabolismo lipídico de pollos de corte.

Tabla 23
Estadísticos descriptivos

Variable	Observaciones	Obs. con datos perdidos	Obs. sin datos perdidos	Mínimo	Máximo	Media	Desv. típica
MACRO1	8	0	8	2,000	2,000	2,000	0,000
HISTO2	8	0	8	1,000	2,000	1,500	0,535

Tabla 24
Prueba de Kruskal-Wallis / Prueba bilateral

K (Valor observado)	5
K (Valor crítico)	3,841
GL	1
valor-p (unilateral)	0,025
alfa	0,05

Nota: Se ha utilizado una aproximación para calcular el valor-p

Interpretación de la prueba:

H0: Las muestras vienen de la misma población.

Ha: Las muestras no vienen de la misma población.

Puesto que el valor-p computado es menor que el nivel de significación $\alpha=0,05$, se debe rechazar la hipótesis nula H0, y aceptar la hipótesis alternativa Ha.

Se han detectado empates en los datos y se han aplicado las correcciones apropiadas

Tabla 25
Comparaciones múltiples por pares mediante el procedimiento de Steel-Dwass-Critchlow-Fligner / Prueba bilateral

Muestra	Frecuencia	Suma de rangos	Media de rangos	Grupos
HISTO2	8	52,000	6,500	A

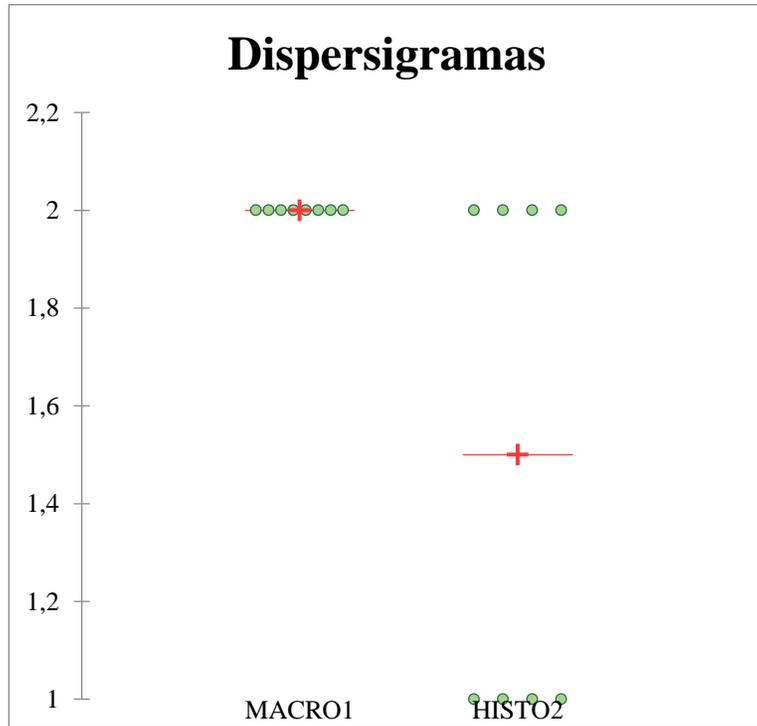


Figura 17. Medias & Intervalo de confianza (*macro1*)

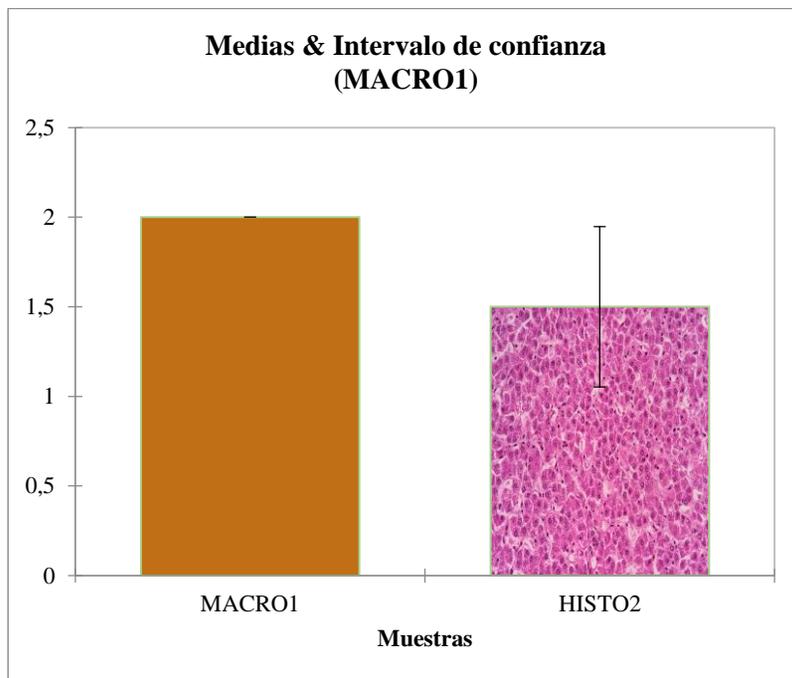


Figura 18. Medias & Intervalo de confianza

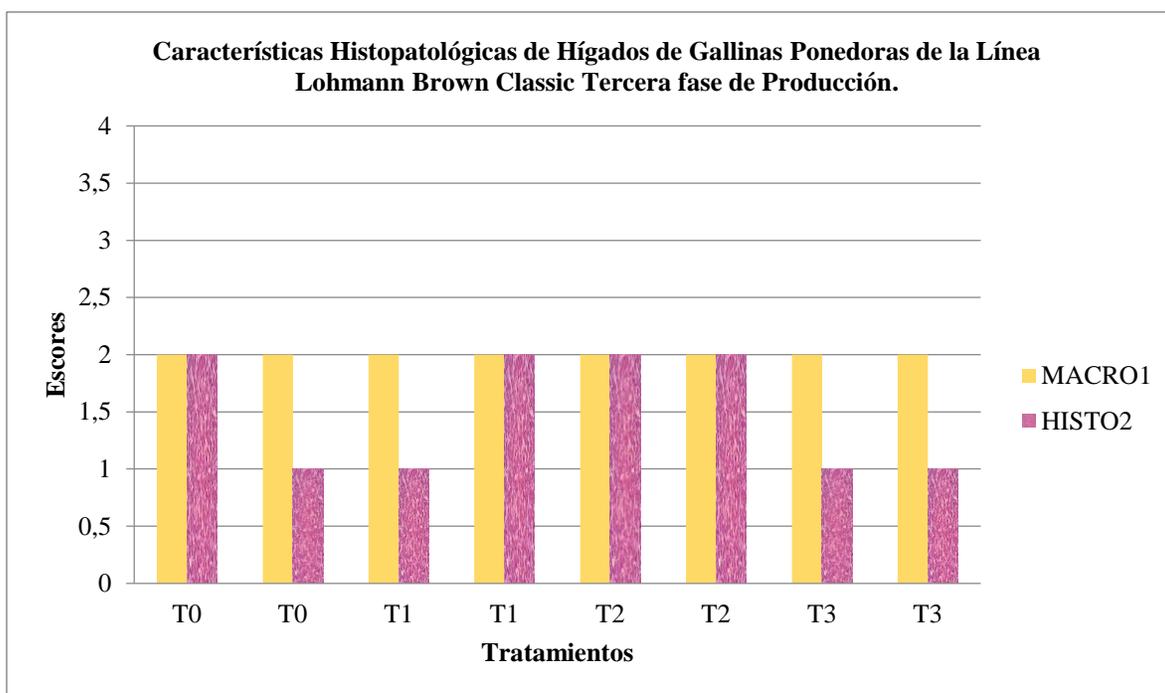


Figura 19. Características Histopatológicas de Hígados de Gallinas Ponedoras de la Línea Lohmann Brown Classic Tercera fase de Producción

4.5 Análisis marginal del costo de producción

El mejor tratamiento desde una perspectiva económica, se calculó aplicando un análisis marginal, para el procedimiento se calculan los costos variables de los tratamientos, seguidamente el beneficio bruto se obtiene multiplicando número de huevos por el costo (actual) unitario en el mercado finalmente beneficio neto es la diferencia entre el beneficio bruto y el total de los costos variables.

Tabla 26

Análisis del Beneficio Neto

Tratamiento	Costos Variables	Beneficio Bruto	Beneficio Neto
0	505,46	709,7	204,14
160	506,67	720,96	214,29
240	507,61	723,62	216,01
320	507,57	692,64	185,07

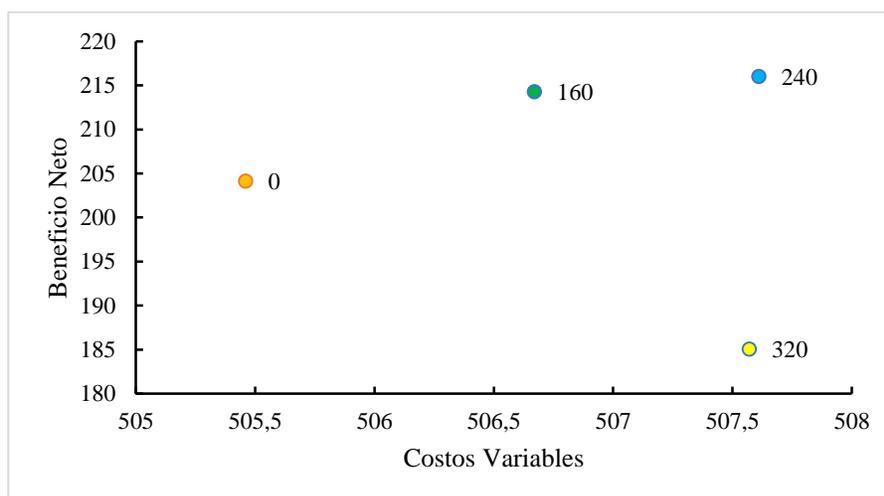


Figura 20. Gráfico de puntos dominados

Tabla 27

Análisis de datos dominados

Tratamiento	Beneficio Neto	Costos Variables	Beneficio Neto Marginal	Tasa de retorno marginal
0	204,14	505,46	10,15	8,38
160	214,29	506,67	1,72	1,82
240	216,01	507,61		

El análisis muestra que el tratamiento con 160 mg/T de Biocolina es el que mayor tasa de retorno tiene el cual resulta más rentable en condiciones prácticas para productores con un índice de la Tasa de retorno marginal 8,38.

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 Conclusiones

- No se encontraron diferencias de los parámetros productivos entre los tratamientos sin embargo donde se utilizó 160 mg/Tn (T1) de Biocolina numéricamente presentaron los mayores índices de producción.
- Respecto a la Calidad de los huevos no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos, pero donde se utilizó 240 mg/Tn (T2) hubo un ligero aumento en las diferentes variables, dentro de los cortes histológicos macroscópicos no se encontró una mejoría en el estado de hígados y no se vio favorecido la salud de las gallinas cuando se utilizó Colina (BioCholine Powder) en la presente investigación.
- Los cortes histológicos microscópicos verificaron que los tratamientos con 0% y 240% de Biocolina no presentaron lesiones y mantuvieron la salud de los animales.
- El tratamiento donde se utilizó 240 mg/Tn (T2) de Biocolina dejó una mayor tasa de retorno y tornándose más rentable dentro de los tratamientos utilizados.

5.2 Recomendaciones

- Aplicar el Tratamiento T2 por presentar una mayor tasa de retorno, igualmente el Tratamiento T1 ya que presenta pesos y una media de producción de huevos similares al tratamiento T2.
- Repetir el experimento utilizando diferentes líneas genéticas de gallinas, edades y en diferente piso de altura para verificar el efecto que tiene el uso de Biocholine a lo largo del ciclo productivo.

BIBLIOGRAFIA

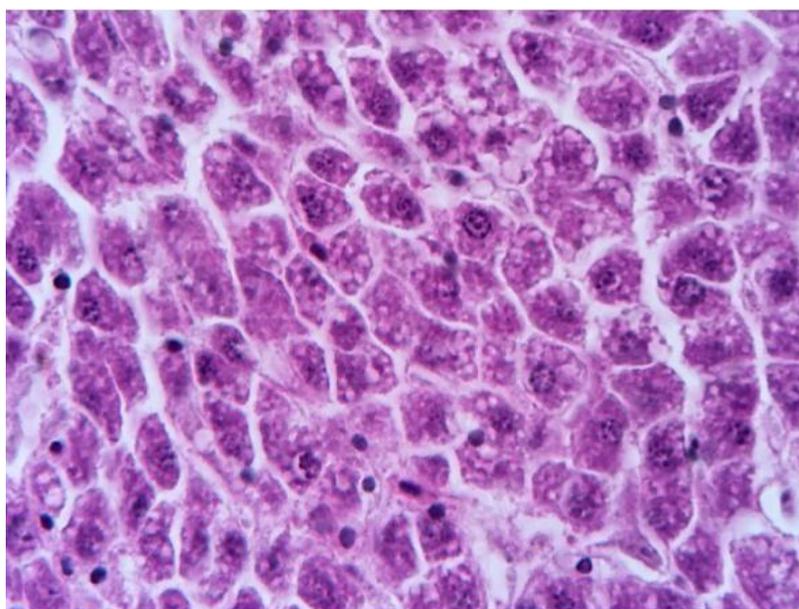
- Blanch, A. (8 de febrero de 2016). *Uso de colina natural en alimentación de aves*. Obtenido de <https://nutricionanimal.info/uso-colina-natural-alimentacion-aves/>
- Calderano, A., Nunes, R., Rodrigueiro, R., & César, R. (2015). *Replacement of choline chloride by a vegetal source of choline in diets for broilers*. Obtenido de *Ciência Animal Brasileira*, 16(1): <https://dx.doi.org/10.1590/1089-6891v16i127404>
- Chatterjee, S., Kumar, A., & Sharma, A. (2003). Comparative efficacy of herbal BioCholine® and synthetic choline chloride (60%) in commercial broiler. *Poultry Technology*, 3 (12), 38-40.
- Chen, Y., Young, K., Chang, S., Tsai, Y., & Chen, C. (2007). Effect of BioCholine® as a replacement of synthetic choline supplement on the egg laying performance in laying hen. *Phytomedica* 8, 75-81.
- Dilger, R., Garrow, T., & Baker, D. (2007). Betaine can partially spare choline in chicks but only when added to diets containing a minimal level of choline. *J. Nutr.* 137, 2224–2228.
- Elizarraraz, R. (8 de Febrero de 1999). *Efecto de la suplementación de enzimas en la dieta para pollo de engorda sobre los parámetros productivos*. Obtenido de http://digeset.ucol.mx/tesis_posgrado/Pdf/Rogelio%20Elizarraraz%20Vargas.pdf
- Emmert, J., Garrow, T., & Baker, D. (1996). Development of an Experimental Diet for Determining Bioavailable Choline . *Concentration and its Application* .
- Etteradossi, N., & Saif, Y. (2008). Infectious bursal disease. Diseases of poultry, Studies with Soybean Lecithin. *J. Anim. Sci. Vol. 74 no. 11*, 2738-2744.
- Fernández, S. (8 de Febrero de 2012). *Contribución de la colina y la betaína al metabolismo de la homocisteína durante la gestación. Universitat rovíra i virgili*. Obtenido de <http://www.tdx.cat/bitstream/handle/10803/96334/TESIS.pdf?sequence=1>
- Google maps. (15 de 01 de 2018). *Mapa de la ubicación del Cantón Antonio Ante*. Obtenido de <http://puembo.gob.ec/datos.htm>
- Griffith, W., & Nye, J. (1971). Choline II chemistry. In: “The Vitamins,” Volume 3). En Sebrell, & Harris, *Academic Press, Inc.* New York.
- Herrera, M. (8 de Febrero de 2010). *Evaluación de la incorporación de sobrehidrolizados proteicos de pescado, (activium) en la dieta de pre inicio de pollos broiler, a través de características de la canal y crecimiento de músculos seleccionados de pechuga y muslos*. Obtenido de [http://repositorio.uchile.cl/bitstream/handle/2250/131289/Evaluaci%C3%B3n-de-la-incorporacion-de-sobrehidrolizados-proteicos-de-pescado-\(Activium%20AE\)-en-la-dieta-de-preinicio-de-pollos-broiler-a-traves-de-caracteristicas-de-la-canal-y-crecimiento-de-mu](http://repositorio.uchile.cl/bitstream/handle/2250/131289/Evaluaci%C3%B3n-de-la-incorporacion-de-sobrehidrolizados-proteicos-de-pescado-(Activium%20AE)-en-la-dieta-de-preinicio-de-pollos-broiler-a-traves-de-caracteristicas-de-la-canal-y-crecimiento-de-mu)
- Houriet, J. (8 de febrero de 2007). *Práctica de enfermedades más comunes en aves de corral (ponedoras y pollos)*. Obtenido de INTA EEA Cerro Azul, Misiones. Miscelánea N° 58: http://www.produccion-animal.com.ar/produccion_aves/enfermedades_aves/90-enfermeda

- Jadhav, N., Maini, S., & K, R. (2008). Comparative Efficacy Studies Of Herbal & Synthetic Choline Supplements On Broiler Growth And Performance. *The Internet Journal of Veterinary Medicine. Volume 5 , 2*.
- MENDOZA, F., & PINO, J. (1964). Efectopigmentante de tres fuentes de xantofilas sobre la yema de huevo. *Téc. Pec. Méx.*, 3, 20-23.
- National Academy of Sciences. (1998). *Dietary Reference Intakes for Thiamine, Riboflavin, Niacin, Vitamin B6, Folate, Vitamin B12, Pantothenic acid, Biotin and Choline*. Obtenido de http://www.nal.usda.gov/fnic/DRI/DRI_Thiamin/390-422_150.pdf
- Singh, B., & Muruganandam, A. (2010). Effect of BioCholine® and synthetic choline chloride on the stability of vitamins. *Phytomedica 11*, 15-24.
- Wurtmann, R., Growdon, J., & Hirsch, M. (1977). Lecithin consumption raises serum-free-choline levels. *Lancet 310*.

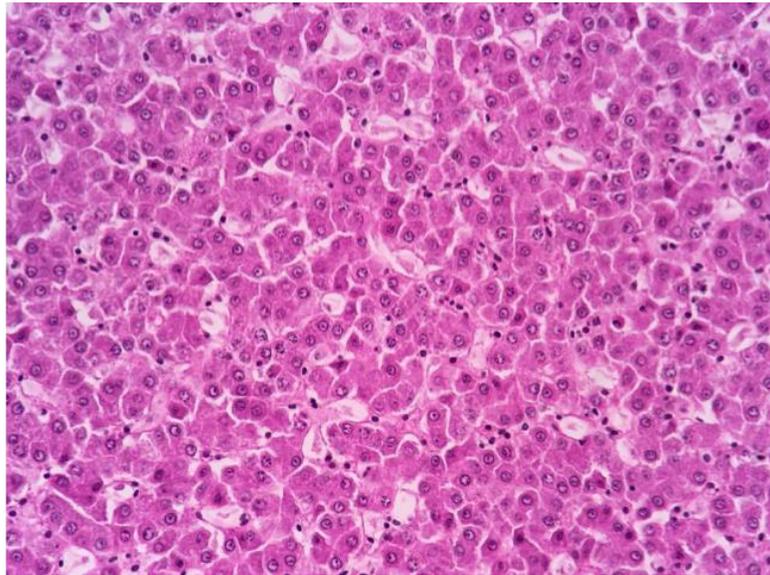
ANEXOS

Resultados Exámenes Histopatológicos de las Gallinas Lohmann Brown Classic A.

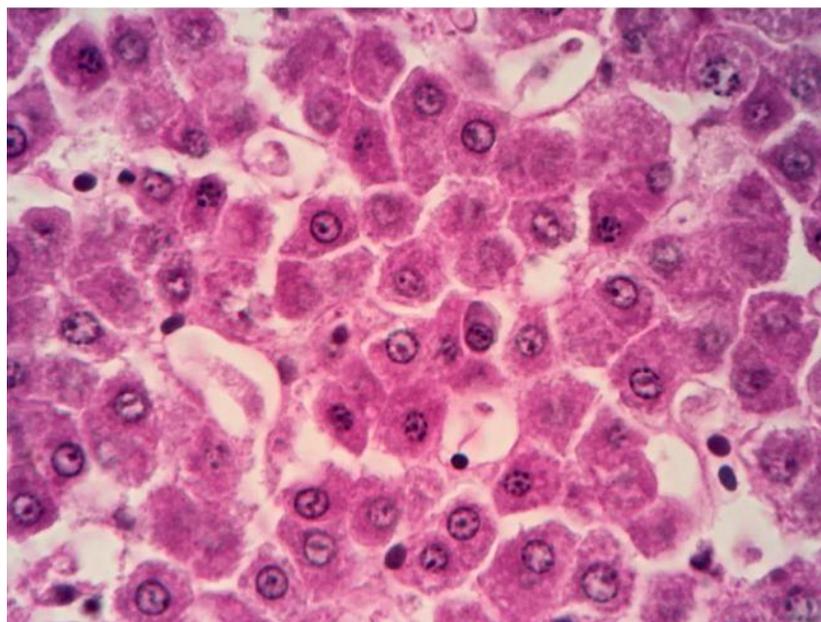
T0. Hígado, degeneración hepatocelular de gota gruesa, leve, multifocal. HE - 400x



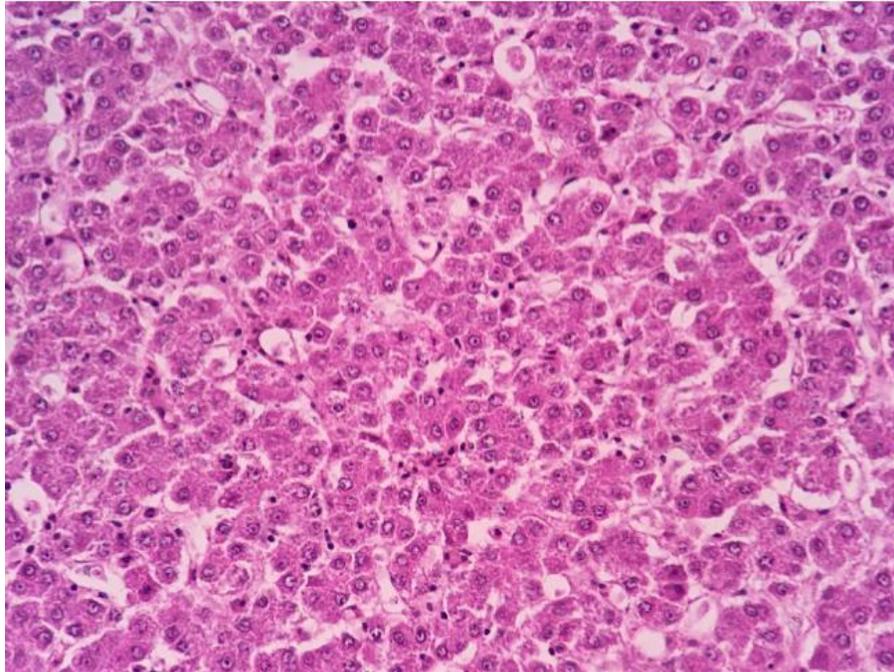
A. T0. Hígado, degeneración hepatocelular de gota gruesa, leve, multifocal. HE - 1000x



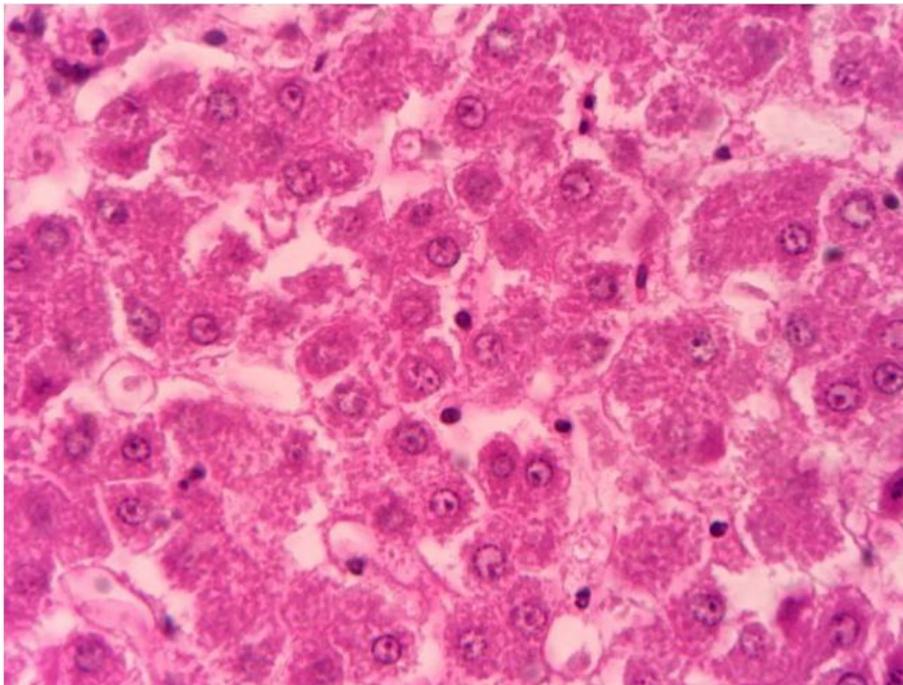
A. T0. Testigo. Hígado, normal. HE - 400x



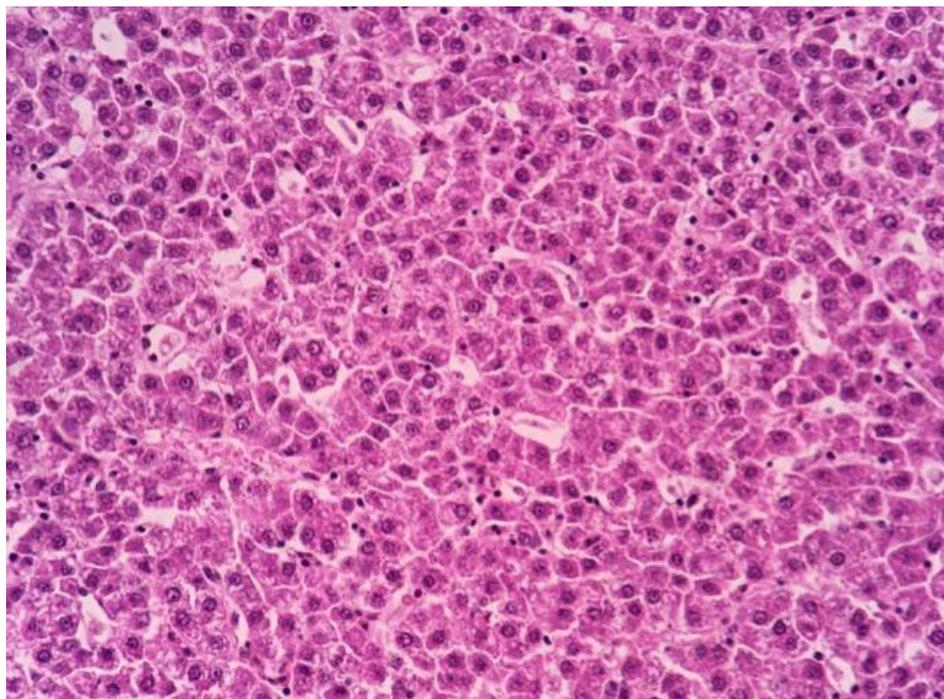
B. T0. Testigo. Hígado, normal. HE - 1000x



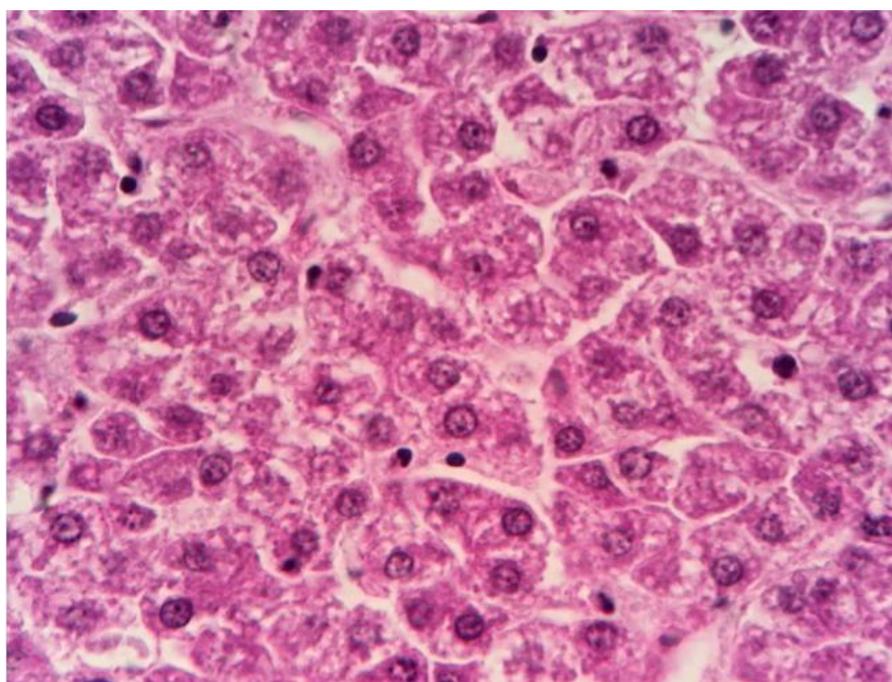
C. T1. Hígado, normal. HE - 400x



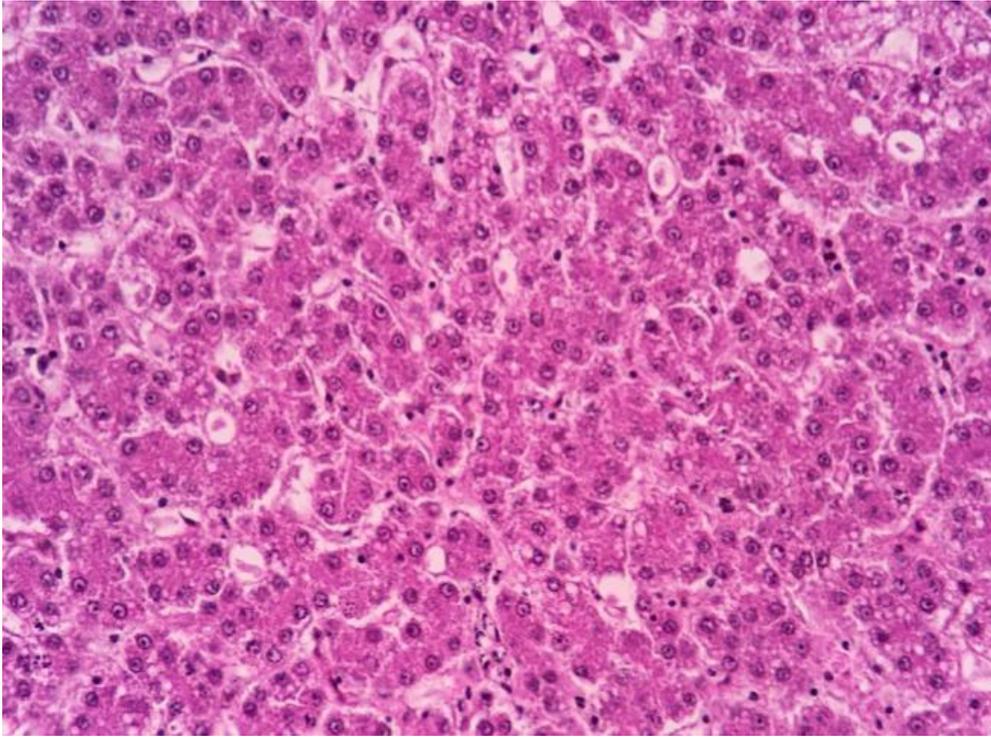
D. T1. Hígado, normal. HE - 1000x



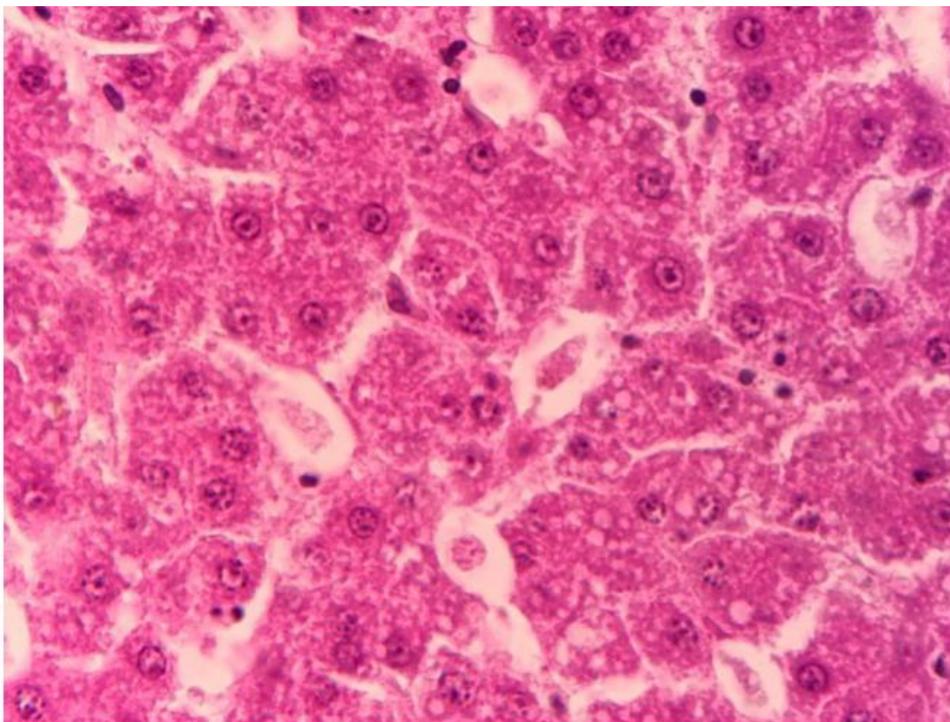
E. T1. Hígado, degeneración hepatocelular de gota gruesa, leve, multifocal. HE - 400x



F. T1. Hígado, degeneración hepatocelular de gota gruesa, leve, multifocal. HE - 1000x



G. T2. Hígado, degeneración hepatocelular de gota gruesa, leve, multifocal. HE - 400x



F. T2. Hígado, degeneración hepatocelular de gota gruesa, leve, multifocal. HE - 1000x