

Tesis en opción al título de Ingeniero Agrónomo

*Evaluación de la actividad metabólica de PROBIOLACTIL®  
y su efecto en indicadores productivos y de salud en terneros  
lactantes.*



**Autora: Juliet González Sánchez**

**Tutores: Dra. C. Ana Julia Rondón Castillo**

**Junio, 2019**



**UNIVERSIDAD DE MATANZAS**  
**FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS**



**Tesis en opción al título de Ingeniero Agrónomo**

**Evaluación de la actividad metabólica de PROBIOLACTIL® y su efecto en indicadores productivos y de salud en terneros lactantes.**

**Autora: Juliet González Sánchez**

**Tutores: Dra. C. Ana Julia Rondón Castillo**

**Junio, 2019**

## PENSAMIENTO

*''...para trabajar inteligentemente el campo, se necesita ciencia varia y no sencilla, y a veces profunda...''*

*José Martí*

## **DECLARACIÓN DE AUTORIDAD**

Declaro que yo, Juliet González Sánchez soy la única autora de este Trabajo de Diploma, en calidad de lo cual autorizo a la Universidad de Matanzas a hacer uso del mismo con la finalidad que estime pertinente.

---

Firma

## **DEDICATORIA**

Dedicado a mí mamá por su apoyo incondicional, por ser parte medular de mi formación como ser humano y como profesional.

## **AGRADECIMIENTOS**

A mi tutora por su paciencia, su ayuda y por darme la posibilidad de desarrollar mi tesis en el tema que me apasiona.

Agradezco eternamente a mi familia por su gran apoyo.

A todos los profesores por compartir sus conocimientos conmigo.

A los trabajadores de la recría 306 de la Empresa Pecuaria Genética de Matanzas por su ayuda indispensable en el experimento *in vivo*.

## **OPINIÓN DEL TUTOR**

Hacemos constar que el Trabajo de Diploma presentado en opción al título de Ingeniero Agrónomo titulado: “Evaluación de la actividad metabólica de PROBIOLACTIL® y su efecto en indicadores productivos y de salud en terneros lactantes”, es resultado de una consagrada labor investigativa de la aspirante Juliet González Sánchez. El uso de probióticos para mejorar los indicadores bioproductivos y de salud en los animales, constituye una temática de interés para las ciencias agropecuarias. El uso excesivo de antibióticos convencionales durante décadas ha incrementado la resistencia a dichos productos y constituye un elemento de atención a nivel mundial. De ahí que la evaluación de biopreparados probióticos en animales, fundamentalmente durante la etapa de destete, es crucial para la introducción en la práctica de estos aditivos a escala de producción.

La estudiante inició este trabajo desde tercer año de la carrera. Durante este tiempo la aspirante ha demostrado capacidad e independencia para dar respuesta a cada tarea que se le planteó y se superó de manera autodidacta en temáticas como Actividad metabólica de los microorganismos probióticos, Aditivos zootécnicos para la alimentación animal y manejo y fisiología del tracto gastrointestinal de los terneros, los cuales le permitieron aportar al desarrollo de la investigación y concluir esta etapa de su vida académica. Además, ha desarrollado un grupo de habilidades que le permitirán desempeñarse como futura Ingeniera Agrónoma.

La bibliografía fue adecuadamente consultada y los resultados pueden presentarse como artículos científicos y en eventos relacionados con el tema.

Tutora:

---

Dr.C. Ana Julia Rondón Castillo

## RESUMEN

El objetivo del presente trabajo fue evaluar la actividad metabólica del biopreparado PROBIOLACTIL® y su efecto en indicadores productivos y de salud en terneros lactantes. Para ello, se determinaron *in vitro* los perfiles de fermentación de carbohidratos y la producción de enzimas específicas, además se realizó la evaluación de la capacidad de crecimiento y la actividad fermentativa de *Lactobacillus salivarius* en el lactoreemplazante RALTEC Milk 17-1 y por último se efectuó la evaluación del efecto probiótico de PROBIOLACTIL® en los indicadores bioproductivos y de salud de terneros lactantes. Como resultado, se obtuvo que este microorganismo es capaz de fermentar los azúcares: galactosa, D-glucosa, D-fructosa, D-manosa, manitol, sorbitol, N-acetil-glucosamina, maltosa, lactosa, melibiosa, sacarosa, trehalosa, inulina y D-rafinosa; además se comprobó que esta bacteria produce enzimas que intervienen en la degradación de la celulosa y otras enzimas específicas. Se demostró que este microorganismo es capaz de crecer por encima de  $15 \text{ Log UFC.mL}^{-1}$  en el lactoreemplazante, así como provocar la disminución del pH y los azúcares reductores totales. Por último se obtuvo, que los terneros que consumieron las dos dosis de PROBIOLACTIL® (10 y 20 mL) mostraron diferencias al aumentar el incremento de peso y disminuir la incidencia de diarreas. Se concluye que el biopreparado PROBIOLACTIL® presenta una alta actividad metabólica y es capaz de provocar un efecto probiótico en los animales que lo consumen.



## **SUMMARY**

The objective of the present work was to evaluate the metabolic activity of the PROBIOLACTIL® biopreparation and its effect on productive and health indicators in lactating calves. To this end, the carbohydrate fermentation profiles and the production of specific enzymes were determined *in vitro*, and it was evaluated the growth capacity and fermentative activity of *Lactobacillus salivarius* in the RALTEC milk replacer Milk 17-1, and finally it was made the evaluation of the probiotic effect of PROBIOLACTIL® on the bioproductive and health indicators of lactating calves. As a result, it was obtained that this microorganism is able to ferment the sugars: galactose, D-glucose, D-fructose, D-mannose, mannitol, sorbitol, N-acetylglucosamine, maltose, lactose, melibiose, sucrose, trehalose, inulin and D-raffinose; It was also found that this bacterium produces enzymes that intervene in the degradation of cellulose and other specific enzymes. It was demonstrated that this microorganism is capable of growing above  $15 \text{ Log CFU.mL}^{-1}$  in the milk replacer, as well as causing the decrease of the pH and the total reducing sugars. Finally, it was obtained that the calves that consumed the two doses of PROBIOLACTIL® (10 and 20 mL) showed differences when increasing the weight increase and decreasing the incidence of diarrhea. It is concluded that the PROBIOLACTIL® biopreparation presents a high metabolic activity and is capable of provoking a probiotic effect in the animals that consume it.

## ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	1
2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	4
2.1. Crianza del ternero.	4
2.1.1. Desarrollo de la crianza de terneros en el mundo y en Cuba. Problemática.	4
2.1.2. Manejo del ternero.	6
2.1.3. Alimentación del ternero.	8
2.2. Características del tracto digestivo del ternero.	9
2.2.1. Microbiota del tracto gastrointestinal del ternero.	14
2.3. Probióticos. Características y modo de acción.	16
2.3.1. Empleo de <i>Lactobacillus</i> como probiótico.	20
2.3.2. Características del <i>Lactobacillus salivarius</i> .	22
2.3.3. Resultados del empleo de <i>Lactobacillus</i> como probiótico en terneros.	23
3. MATERIALES Y MÉTODOS GENERALES	26
3.1. Materiales biológicos y medios de cultivo.	27
3.1.1. Cepa de <i>Lactobacillus salivarius</i>	27
3.1.2. Medio de cultivo.	27
3.1.3. Conservación de la cepa.	27
3.2. Caracterización de la actividad enzimática de <i>Lactobacillus salivarius</i> C-65	27
3.2.1. Hidrólisis de la celulosa.	27
3.2.2. Determinación de la producción de enzimas específicas	28

3.2.3. Determinación de la capacidad de fermentación de carbohidratos	28
3.3. Determinación de la capacidad de crecimiento <i>in vitro</i> y actividad enzimática de <i>Lactobacillus salivarius</i> C-65 en lactoreemplazante para terneros RALTEC® Milk 17-1	28
3.3.1. Cinética de crecimiento de <i>Lactobacillus salivarius</i> en lactoreemplazante por 10 h	28
3.4. Comprobación de la calidad microbiológica de PROBIOLACTIL®	29
3.4.1. Elaboración del biopreparado probiótico	29
3.4.2. Análisis microbiológico del biopreparado	30
3.4.3. Análisis químico	32
3.5. Evaluación del efecto probiótico PROBIOLACTIL® en los indicadores productivos y de salud en terneros lactantes.	32
3.5.1. Condiciones experimentales, diseño y tratamientos	33
3.5.2. Condiciones de manejo y alimentación	34
3.5.3. Evaluación de indicadores productivos y de salud	37
3.6. Estudio preliminar de los beneficios económicos que aporta la aplicación de dos dosis del biopreparado en terneros lactantes	37
3.7. Análisis estadístico.	38
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.	39
4.1. Caracterización <i>in vitro</i> la actividad metabólica de la cepa probiótica <i>Lactobacillus salivarius</i> C-65.	39
4.2. Determinación de la capacidad de crecimiento <i>in vitro</i> y la actividad enzimática de <i>L. salivarius</i> C-65 en el lactoreemplazante para terneros RALTEC Milk 17-1.	44
4.3. Comprobación de la calidad microbiológica del PROBIOLACTIL®	47
4.4. Evaluación del efecto probiótico del PROBIOLACTIL® en indicadores productivos y de salud de terneros lactantes	47

4.5. Análisis de los beneficios económicos que aporta la aplicación de dos dosis del biopreparado en terneros lactantes.	<b>52</b>
5. CONCLUSIONES.	<b>58</b>
6. RECOMENDACIONES.	<b>59</b>
7. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.	<b>60</b>
8. ANEXOS	<b>68</b>

# *Introducción*

## 1. INTRODUCCIÓN

En la crianza artificial de terneros, los animales son susceptibles a desórdenes gástricos, muchos de los cuales tienen su origen en incorrectas prácticas nutricionales, problemas de tipo respiratorio y parasitológico que afectan su sano desarrollo (Calzadilla *et al.*, 1999).

Durante años se utilizaron los antibióticos para revertir estos problemas, sin embargo a nivel mundial se exploran diversas alternativas para sustituir a estos antimicrobianos como promotores del crecimiento animal. Entre ellas se destacan los agentes bioterapéuticos (probióticos, prebióticos y simbióticos), catalogados como productos de origen natural, beneficiosos para la salud, con propiedades biológicas activas y con capacidad preventiva y terapéutica (Corzo *et al.*, 2015). Estos aditivos pueden elaborarse a partir de microorganismos o sustancias que contribuyan a estabilizar, mantener, reproducir y potenciar el equilibrio favorable de la ecología microbiana intestinal, con el buen funcionamiento del sistema inmunológico (Pandey *et al.*, 2015).

La mayoría de los autores coinciden en definir a los probióticos como aditivos alimentarios constituidos por microorganismos vivos, que tienen un efecto beneficioso en la fisiología y la salud del hospedero (Griggs y Jacobs 2005). Los microorganismos que más se usan como probióticos son las bacterias ácido lácticas -especialmente *Lactobacillus*, *Bacillus*, *Bifidobacterium*- y las levaduras, fundamentalmente las del género *Saccharomyces* (del Valle, 2017).

Los lactobacilos del tracto digestivo forman parte de la población microbiana beneficiosa, participan activamente en los procesos fermentativos, poseen actividad inhibitoria frente a microorganismos patógenos, neutralizan enterotoxinas, sintetizan vitaminas, estimulan la respuesta inmune y mejoran la absorción de minerales (Patterson y Burkholder 2003). De ahí que estos microorganismos se utilicen ampliamente en la formulación de productos probióticos, destinados a mejorar los indicadores productivos y la salud de los animales.

En el mundo actual, los problemas fundamentales que se presentan con el uso de los probióticos se centran en los altos precios de estos productos, la variabilidad que se aprecia en los resultados de su aplicación en los animales y la baja viabilidad de los microorganismos (Faria *et al.* 2006).

En la Universidad de Matanzas se ejecutaron diferentes proyectos de investigación para el desarrollo de productos probióticos que mejoran el rendimiento productivo y la salud de los animales (Milián, 2009 y Rondón, 2009). Entre ellos se encuentra PROBIOLACTIL<sup>®</sup>, biopreparado elaborado a partir de cepas de *Lactobacillus salivarius* C65, el cual se evaluó en aves y cerdos, con excelentes resultados en el incremento de los indicadores productivos y de salud (Rondón *et al.*, 2012 y Rondón *et al.*, 2013).

Se conoce que *Lactobacillus salivarius* es una bacteria que en los últimos años se emplea como probiótico por su alta capacidad de crecimiento y la producción de ácido láctico y ácidos grasos de cadena corta (AGCC) (Sayan *et al.*, 2018). Sin embargo se desconoce si esta bacteria crece en el alimento que se suministra a los terneros durante la crianza artificial y si desarrolla alguna actividad fermentativa en este suplemento.

Por otra parte, aún no se conoce el efecto de este biopeparado en terneros lactantes, los cuales están en un momento crítico tras la separación de la madre, presentándose con frecuencia diarreas que pueden llevar a la disminución del peso vivo y hasta la muerte del animal.

Teniendo en cuenta lo planteado anteriormente, el **problema científico** de la presente investigación es el siguiente:

Durante el destete en recría, los terneros son susceptibles a los trastornos entéricos provocados por cambios en la dieta, desequilibrios en la microbiota digestiva, lo que unido a las enfermedades carenciales y a los trastornos en la inmunidad, se presentan diarreas y problemas de salud, con la consecuente afectación en los

indicadores productivos y el retardo en la incorporación de los animales a la unidad de desarrollo

Como **hipótesis científica** se plantea:

La evaluación *in vitro* de la actividad metabólica del biopreparado PROBIOLACTIL® y su efecto probiótico en terneros durante la etapa de lactancia, permitirá mejorar la fisiología digestiva, la respuesta productiva y la salud de estos animales durante su estancia en recría.

Para llevar a cabo la presente investigación se planteó como **objetivo general**:

Evaluar la actividad metabólica de *Lactobacillus salivarius* y su efecto probiótico en indicadores productivos y de salud en terneros lactantes.

Como **objetivos específicos** se propusieron:

1. Caracterizar *in vitro* la actividad metabólica de la cepa probiótica *Lactobacillus salivarius* C-65.
2. Determinar *in vitro* la capacidad de crecimiento y la actividad fermentativa de *L. salivarius* C-65 en el lactoreemplazante para terneros RALTEC Milk 17-1.
3. Evaluar el efecto probiótico del PROBIOLACTIL® en indicadores productivos y de salud de terneros lactantes.
4. Analizar los beneficios económicos que aporta la aplicación de dos dosis del biopreparado en terneros lactantes.



# *Revisión Bibliográfica*

## **2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA**

### **2.1 Crianza del ternero**

#### **2.1.1 Desarrollo de la crianza de terneros en el mundo y en Cuba. Problemáticas.**

El ternero constituye el eslabón fundamental para estructurar un adecuado flujo zootécnico en el rebaño. El sistema de alimentación resulta decisivo para lograr un óptimo crecimiento, de manera que se incorporen al evento reproductivo lo más temprano posible con adecuado desarrollo somático y genital. Desde el punto de vista económico, es imposible utilizar altos volúmenes de concentrados en los sistemas de crianza y alimentación. Una alternativa a este sistema es el empleo de dietas integrales. Estas permiten la inclusión de materiales disponibles en la región, como son los pastos y forrajes, sean de fuentes herbáceas como de árboles y arbustos (Estevez *et al.*, 2015; Rondón *et al.*, 2018).

El sector agropecuario cambia vertiginosamente, debido a las tendencias mundiales de globalización, internacionalización de mercados y acuerdos comerciales multinacionales. Uno de los temas emergentes en este escenario es el Bienestar Animal (BA). Este depende de muchos factores, tales como la sanidad, el alojamiento y el manejo, las interacciones sociales entre animales y la posibilidad de llevar a cabo determinadas pautas de conducta. La conducta puede definirse simplemente como la respuesta de un organismo al ambiente (Carthy, 1969; Leva, 2013).

La producción ganadera moderna se rige entre otros factores por la racionalidad, la intensificación, la productividad y la disminución de los costos. La productividad de cualquier sistema suele medirse en kg de leche o carne por unidad de superficie, en ella se determina si el proceso puede ser costeable o no, si se debe alcanzar una alta rentabilidad en el proceso productivo y/o prestar atención en orden de prioridad al nivel de producción a lograr en el rebaño. El sistema que se elija debe ser sólido,

sistemático, sencillo e integral, para poder cumplir los objetivos de su implementación (Andrial, 2004).

En la cría de terneros, los aumentos medios diarios de peso deben ser de al menos 800 g durante todo el período de bebida. Esta es la única forma de explotar todo el potencial de desarrollo de la ternera, así como de alcanzar una edad precoz en el primer parto de la hembra joven. Sin embargo, si se producen enfermedades, hay que prepararse para la disminución del rendimiento y menores aumentos diarios de peso (Hovenjürgen, 2017).

Es importante considerar que las terneras se hallan bajo presión permanente por diferentes factores externos. Estos incluyen, además de patógenos, tales como virus, bacterias y protozoos, también la temperatura, la humedad, la alta velocidad del aire y la densidad de stock. (Hovenjürgen, 2017).

La ganadería cubana estuvo basada en la producción extensiva de carne hasta 1959; entre 1960 y 1989 la producción de leche se desarrolló a un ritmo medio anual superior al 10%. Al inicio de la década de los noventa, la desaparición del sistema socialista en los países del este de Europa causó graves dificultades, que condujeron a la reducción del comercio exterior de Cuba. Esta situación provocó que el país no pudiera realizar la importación de grandes cantidades de combustible, piensos, fertilizantes agroquímicos y otros productos necesarios para mantener los sistemas de explotación intensiva e industrial. Se produjo una brusca disminución de la fertilidad de los rebaños y los niveles de producción de leche y carne se redujeron hasta en un 50 por ciento. A partir de entonces, la ganadería cubana se reorientó hacia la autosostenibilidad mediante el uso de pastos, árboles proteicos, caña de azúcar y fuentes de nitrógeno no proteico, así como el aprovechamiento de otros recursos locales (Pérez, 2018).

En Cuba se emplean diferentes aditivos bajo el concepto de complementarios de la lactancia o lacto reemplazantes (Rondón *et al.*, 2018). En este sentido Wattiaux (2008) considera que es necesario suministrarle a los terneros de acuerdo a su

nueva tecnología de crianza, leche o algún reemplazante lácteo que brinde beneficios al futuro desarrollo del tracto gastrointestinal (TGI).

Para alcanzar buenos resultados en esta etapa, es imprescindible garantizar el crecimiento del ternero, para lo que se precisa el consumo del calostro en el momento y en cantidades adecuadas, disponer de alimentos concentrados y voluminosos, apropiados para su estómago en desarrollo, así como asegurar el manejo y protección adecuados para lograr un desempeño productivo correcto y mejorar la utilización de los alimentos que se ofrecen (Ybalmea, 2015).

### **2.1.2 Manejo del ternero**

El éxito de cualquier sistema de producción ganadero depende de la capacidad de criar satisfactoriamente los animales que servirán de reemplazo. La etapa de cría se caracteriza por ser improductiva, ya que se inicia con la vaca seca gestante y termina con el primer parto de la novilla. En muchas ocasiones, no se le presta la adecuada atención a este período, especialmente a los recursos financieros y de trabajo. A largo plazo, se harán notar los efectos negativos en la baja eficiencia y productividad del sistema, el escaso desarrollo de la ubre y los bajos índices de producción de leche (Ybalmea, 2015).

La crianza de terneros constituye uno de los aspectos más importantes de la producción ganadera, ya que es punto de partida tanto para la producción de leche como la de carne. Esta crianza presenta complejidades que es preciso conocer por los diversos cambios a que se someten los animales a causa del ambiente físico y a otras variaciones introducidas por el hombre (Calzadilla *et al.*, 1999). Una vez que el ternero se separa de la vaca e ingresa a un sistema artificial, se le debe proveer de todo lo necesario para su crecimiento y desarrollo (Lanuza, 2016).

Es por ello que cobra gran relevancia la entrega de las mejores condiciones para que las terneras puedan desarrollar su potencial genético y la forma práctica de saber si se cumple con las condiciones básicas que la Organización Mundial de

Sanidad Animal (OIE) declaró como los estándares mínimos que se deben proporcionar a los animales destinados a la producción (Iraira y Canto, 2014):

- 1.- Libres de hambre, sed y malnutrición.
- 2.- Libres de incomodidades.
- 3.- Libres de dolor, heridas y enfermedades.
- 4.- Libres de expresar su comportamiento normal.
- 5.- Libres de miedo y estrés.

Las horas o días de permanencia del ternero con la vaca, es variable. Se recomienda que sea lo menos posible para que la separación ("deshije") no afecte a la vaca y dificulte su manejo para la ordeña y el pastoreo. Es fundamental que el ternero tome su primer calostro directamente y se recomienda que el ternero esté 2 o 3 días con la vaca, para descargar el excedente calostrado (Lanuza, 2016).

Las instalaciones para terneros de reemplazo se construyen con indicaciones de tipo sanitarias; por esa razón se deben realizar prácticas de desinfección; ya que estas disminuyen la exposición de los terneros a los patógenos (Uitz y Jaimes, 2011).

Según del Valle (2017) en la crianza, las condiciones de alimentación y de vida de los terneros suelen estar bajo control y la revisión diaria de los animales asegura la detección de problemas a tiempo. El paso a la recría, sin leche, afecta considerablemente el desarrollo del animal, aunque la crianza no termina en el destete. En este sentido dicho autor emite las consideraciones siguientes:

- La crianza artificial de los terneros es el inicio de un proceso que tiene por objetivo lograr hembras de reemplazo o machos para la producción de carne. La corta edad de los animales, el tipo de alimentación y los sistemas individuales de crianza exigen un manejo intensivo, diferente al tratamiento colectivo que se hace con el resto de las categorías en los sistemas pastoriles.

- Es común considerar que la crianza finaliza cuando se suspende el suministro de leche o sustituto lácteo, entre los 45 y 60 días de edad, donde se le da escasa atención a las dos o tres semanas siguientes que son fundamentales para la adaptación del ternero a condiciones de campo. Sin embargo, esto constituye un error, pues animales pequeños que estuvieron alojados en jaulas o amarrados a estacas, de repente tienen que aprender a convivir con otros de mayor tamaño y edad, conocer en espacios muy grandes la ubicación de los lugares de pastoreo, el acceso a comederos, agua y enfrentar un cambio brusco de su dieta habitual.

En la cría artificial el ternero se separa de la vaca e ingresa a un sistema que le provee todo lo necesario para su crecimiento y desarrollo. Las horas o días de permanencia del ternero con la vaca, es variable. Se recomienda que sea lo menos posible, para que la separación ("deshije") no afecte a la vaca y dificulte su manejo para la ordeña y el pastoreo. Es fundamental que el ternero tome su primer calostro directamente y se recomienda que el ternero esté 2 o 3 días con la vaca, para descargar el excedente calostrado (Lanuza, 2016).

Las instalaciones para terneros de reemplazo se construyen con indicaciones de tipo sanitarias; por esa razón se deben realizar prácticas de desinfección; ya que estas disminuyen la exposición de los terneros a los patógenos (Uitz y Jaimes, 2011). Según Fernández (2003) en la crianza, las condiciones de alimentación y de vida de los terneros suelen estar bajo control y la revisión diaria de los animales asegura la detección de problemas a tiempo. El paso a la recría, sin leche, afecta considerablemente el desarrollo del animal, aunque la crianza no termina en el destete.

### **2.1.3 Alimentación del ternero**

La primera alimentación del ternero, es el calostro y la leche de transición, ingeridos durante 2 a 3 días y en cantidad de 1 litro por cada 10 kg de peso en 2 raciones al día (ejemplo: 1 ternero de 40 Kg de peso consume 4 litros al día). Al nacimiento, el

ternero se comporta como un monogástrico y depende del tipo de alimentación, evoluciona más rápido o más lenta la formación del estómago compuesto del rumiante adulto (Lanuza, 2016).

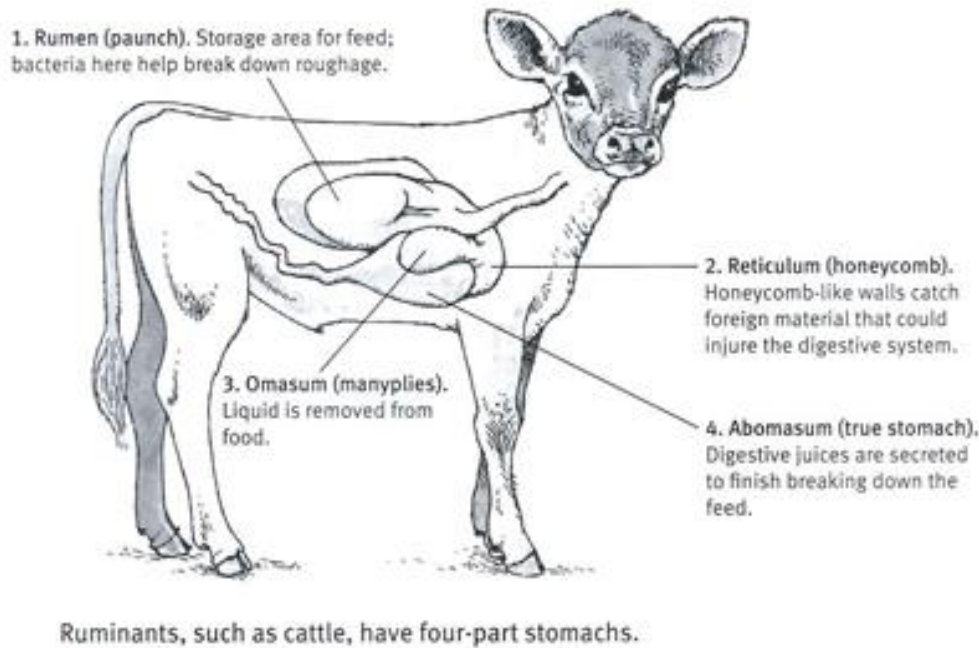
La alimentación es la base para el desarrollo y crecimiento de los terneros, pero se debe tomar en cuenta que estos requerimientos nutricionales tendrán un impacto directo sobre la condición corporal en el futuro (Uitz y Jaimes, 2011). El sistema de alimentación de terneros durante el período de lactancia se basa en el uso de leche o de sustitutos de leche; asimismo, se inicia la administración de alimentos sólidos para favorecer el desarrollo ruminal. Un correcto manejo de las dietas líquidas y sólidas determinará la eficiencia alimenticia, el desarrollo de un rumen funcional (Marín, 1992; Uitz y Jaimes, 2011).

El sustituto de leche comercial, cuando son bien fabricados y contienen los nutrientes adecuados, permiten un rendimiento cercano o igual al que se obtiene con leche entera. Son más económicos, porque en su formulación se ocupan nutrientes alternativos como proteínas y grasas de origen vegetal, entre otros, para rebajar costos. Para todos los sistemas de crianza, la cantidad de dieta láctea a suministrar es variable. En general, mientras mayor sea el consumo de dieta láctea y el ternero satisface su apetito, hay menor probabilidad de consumir otros alimentos. Lo más común es ofrecer una cantidad limitada de dieta láctea para generar "hambre" por otros alimentos de muy buena calidad. Un ejemplo puede ser ofrecer 4 L al día en 2 raciones hasta los 45 o hasta 60-90 días, según sea el nivel tecnológico y la eficiencia existente (Lanuza, 2016).

## **2.2 Características del tracto digestivo del ternero**

En la figura 1 se aprecian las características anatómicas del tracto digestivo de los terneros, conformado de principio a fin por la boca; la lengua; las glándulas salivales, el esófago; el estómago que tiene cuatro compartimentos (el rumen, el retículo, el omaso y el abomaso); el páncreas; la vesícula biliar; el intestino delgado y el intestino grueso. Los animales muy jóvenes no desarrollan inicialmente la capacidad

de digerir los pastos y por lo tanto, el abomaso es el único estómago funcional al nacimiento. Aparte, los terneros recién nacidos y los bovinos adultos tienen un intestino delgado funcional que permite la digestión alcalina de los alimentos gracias a las vellosidades intestinales (Moran, 2002).



**Figura 1.** Cavidades estomacales del ternero lactante (Tomado de Anon, 2012a).

El período en que el ternero ingiere calostro y leche en transición dura casi una semana. La nutrición durante este período puede tener efectos posteriores en la vida del ternero. Muchos estudios indican que el calostro no solo transfiere los anticuerpos maternos, sino también elementos nutritivos e indispensables para los recién nacidos como aminoácidos esenciales y no esenciales, ácidos grasos, lactosa, vitaminas y minerales (Blum y Hammon, 2000).

El éxito ecológico de los rumiantes se debe a los beneficios de la fermentación pregástrica. El término fermentación se refiere al metabolismo microbiano en ausencia de oxígeno que convierte a los carbohidratos en productos orgánicos como los ácidos grasos volátiles (AGV), ácido láctico y etanol. Estos productos retienen la mayor parte de la energía original en el sustrato, una consecuencia de la falta de

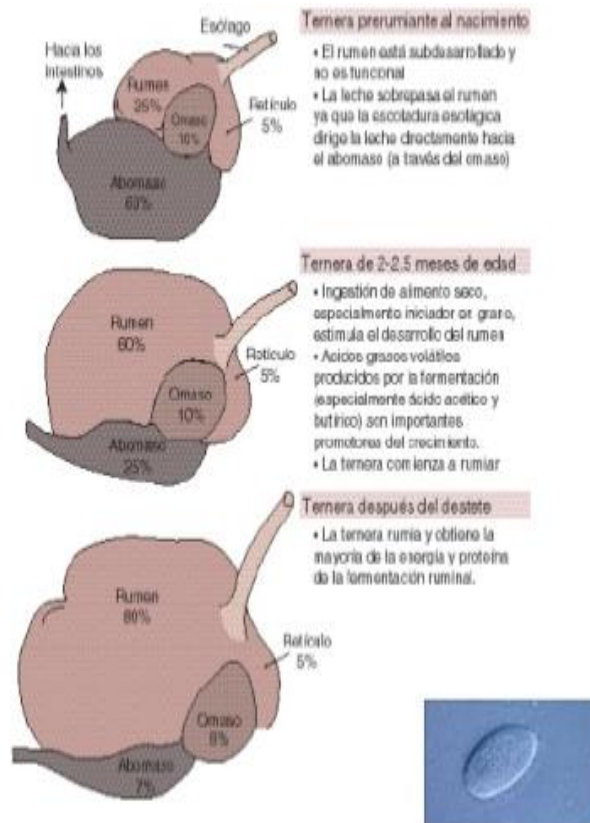


oxígeno para su oxidación completa a dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) y agua (H<sub>2</sub>O) (Díaz *et al.*, 2006).

La capacidad fermentadora del rumen a la cual se hizo referencia con anterioridad no está presente en el rumiante recién nacido (ternero). Al nacer, el rumen no es un órgano funcional y el sistema digestivo y metabólico del rumiante no se diferencia de cualquier otro mamífero recién nacido. El desarrollo ruminal se puede dividir en tres fases (figura 2): Fase de lactante o no rumiante (0 – 3 semanas), Fase de transición (3 – 8 semanas), donde pasará de alimentarse a base de leche a alimentarse de productos vegetales y Fase de rumiante (a partir de las 8 semanas) donde ya se sustenta exclusivamente de alimentos vegetales (Wardrop, 1961; Rotger, 2005).

Se divide en tres períodos:

- 1) Entre el nacimiento y las 3 semanas de vida
- 2) Entre las 3 y las 8 semanas de vida
- 3) A partir de las 8 semanas



**Figura 2.** Características del estómago del animal prerrumiante (Anon, 2012b).

Fase de lactante: En esta fase el animal obtiene toda su energía a través de la digestión de la leche por enzimas propias. Se considera como punto crítico de esta etapa al nacimiento debido a que se pasa de la alimentación placentaria a la digestiva y gran parte del éxito de supervivencia durante los primeros días de vida, se deberá a la composición del calostro que aportará nutrientes, inmunidad pasiva y contribuirá al mantenimiento de la temperatura corporal (Orskov y Ryle, 1998; Díaz *et al.*, 2006). En la figura 3 se aprecian las diferencias de las paredes del rumen de un ternero que consume leche y de otro que ya consume forraje.



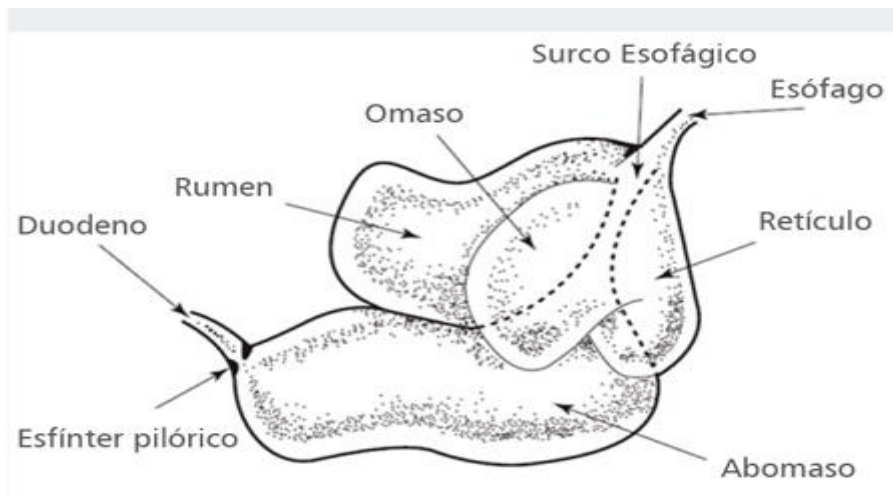
Fuente: Universidad de Pennsylvania

**Figura 3.** Diferencia entre el rumen de un ternero lactante y el rumen de un ternero que consume pasto (Tomado de Díaz *et al.*, 2006).

El ternero en sus primeros meses de vida es considerado monogástrico, pues aún no tiene desarrollado el rumen retículo. Para ello existe la gotera esofágica que permite el paso de la leche directamente al abomaso, donde se dirige. Se considera que el rumen se hace funcional a partir de los tres meses de edad de la cría (Realpe, 2010).

El abomaso se desarrollará a una mayor tasa y al nacimiento, posee casi la mitad del volumen total del sistema estomacal (figura 4). Esto es porque el abomaso es necesario para utilizar la dieta líquida durante las primeras semanas después del

nacimiento; en los primeros días de vida de un ternero, los líquidos evadirán el rumen, retículo y omaso para ganar acceso directo al abomaso. El peso de la mucosa abomasal se incrementa considerablemente en el ternero durante el primer mes de preñez (hasta 25%), y durante los primeros 2 a 7 días de vida (hasta 30%). Después de ello, no cambia hasta los 21 días de edad. Por otra parte, con el cambio dietético de líquido a sólido, el rumen, el retículo y el omaso llegan a ser funcionales e incrementan de tamaño (Hyttel, 2010).



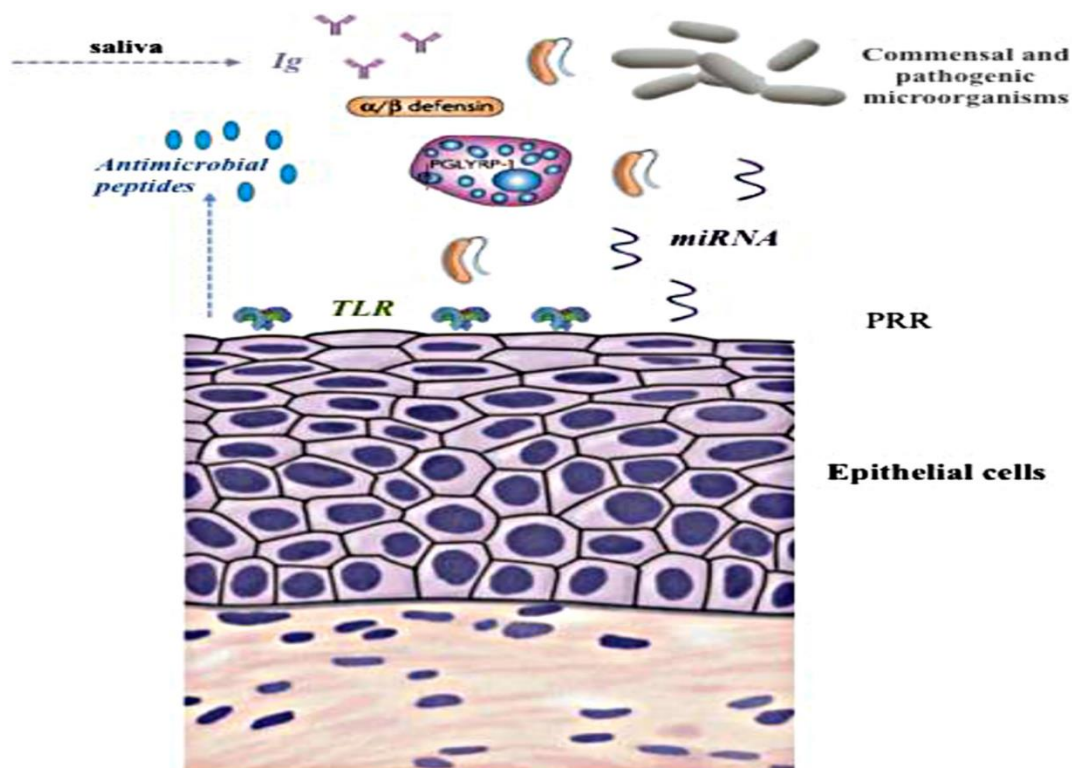
**Figura 4.** Distribución de los compartimentos digestivos en el ternero recién nacido (Tomado de Moran, 2002).

Durante la fase de lactancia las pautas de crecimiento de los distintos compartimentos son similares y al iniciarse el consumo de alimentos sólidos comienza un rápido crecimiento del retículo – rumen. A las 8 semanas de edad, el rumen experimenta su máximo crecimiento, alcanzando proporciones próximas a las del adulto con respecto a los otros órganos digestivos y al peso corporal. Posteriormente la totalidad del estómago aumentará en capacidad y en peso, proporcionalmente al peso corporal. Cabe señalar que en el rumiante adulto el rumen llega a representar el 80% de la capacidad gástrica. El omaso y abomaso no sufren estos rápidos crecimientos, sino que crecen lentamente durante todo el desarrollo (Lyford, 1993).

### **2.2.1 Microbiota del tracto gastrointestinal del ternero.**

El tracto intestinal de los terneros recién nacidos es estéril al nacer; sin embargo a las pocas horas las bacterias presentes en el medio ambiente comienzan a colonizar los intestinos. Esta colonización puede ser acelerada por el medio ambiente que promueve el crecimiento de patógenos. Si un ternero nace en un ambiente que contenga un gran número de bacterias patógenas, las oportunidades de colonización y por ende, de enfermedades se incrementan. Esto puede conducir a que los terneros desarrollen Septicemia y, a menudo, la muerte si no son tratadas a tiempo. La presencia de bacterias en los intestinos puede acelerar su cierre para la absorción de las inmunoglobulinas del calostro con lo que se reduce la adquisición de la inmunidad pasiva. (Blanco, 2006)

Al día o dos de edad, empiezan a encontrarse bacterias, principalmente aerobias. La primera colonización ruminal ocurre por reflujo del abomaso y se observa desde los primeros días de vida por la *E.coli* y *Cl. welchii*. La capacidad de paso de estas bacterias a través de la barrera ácida del abomaso es debida a la presencia del cuajo que aumenta el pH, conjuntamente con la colonización de estas continúa por reflujo la de lactobacilos y bacterias amilolíticas y, por último, las celulolíticas. El pH del contenido ruminal baja durante las primeras 4-8 semanas de ingestión con el creciente consumo de alimento sólido, esto favorece la absorción de los AGV, especialmente del ácido butírico, ya que al tener el líquido ruminal un pH alrededor de 5,4 aumenta su velocidad de absorción en 3 o 4 veces respecto al acético. Posteriormente poco a poco va subiendo el pH hasta alcanzar los niveles de 6-6,2 que son en los que se llega a la mayor actividad celulolítica, por lo que estas son las condiciones óptimas para este tipo de microorganismos (Díaz *et al.*, 2006). En la figura 5 se muestran los diferentes elementos inmunorreguladores del microbioma ruminal.



**Figura 5.** Ilustración de los diferentes elementos de la inmunorregulación del microbioma ruminal. TLR: Receptor de colonización; PRR, receptores de reconocimiento de patrones (Tomado de Yañez *et al.*, 2015).

### 2.3 Probióticos. Características y modo de acción

El término probiótico significa “a favor de la vida” y existen diferentes definiciones del mismo. Según la FAO (2001) son “microorganismos vivos que ejercen una acción benéfica sobre la salud del huésped al ser administrados en cantidades adecuadas”/“alimentos susceptibles de producir un efecto benéfico sobre una o varias funciones específicas en el organismo, más allá de los efectos nutricionales habituales, de mejorar el estado de salud y de bienestar y/o de reducir el riesgo de una enfermedad” (del Valle, 2017).

Numerosas son las definiciones que se dieron en estos últimos tiempos Parker (1974); Vanbelle *et al.* (1990) y Lyons (1997) entre otros, sin embargo, todos coinciden con la definición dada por Schrezenenmeir (2004), donde expresa que los

probióticos son productos que contienen microorganismos definidos y viables en grado suficiente para modificar la microbiota, los que ejercen un efecto beneficioso sobre la salud (del Valle, 2017).

Los probióticos y prebióticos tienen la capacidad de modular el equilibrio y las actividades de la microbiota gastrointestinal (GI) y, por lo tanto, se consideran beneficiosos para el animal huésped y se utilizan como alimentos funcionales. Numerosos factores como las restricciones dietéticas y de manejo, afectan notablemente la estructura y las actividades de las comunidades microbianas intestinales en animales de ganado. Estudios anteriores informaron el potencial de los probióticos y prebióticos en la nutrición animal; sin embargo, sus eficiencias a menudo varían y son inconsistentes, posiblemente, en parte, porque la dinámica de la comunidad GI no se tiene en cuenta (Uyeno *et al.*, 2015)

En una versión persa del Antiguo Testamento, en el Génesis, se consideraba que la longevidad de Abraham se debía al consumo de “leche agria”. En el siglo 76 antes de Cristo, el historiador romano Plinio recomendaba la administración de lácteos fermentados para tratar la gastroenteritis. Sin embargo, el interés científico por las bacterias como agentes protectores frente a diferentes enfermedades surge de la observación del Premio Nóbel Elie Metchnikoff (1903), quien atribuyó la longevidad de ciertas poblaciones balcánicas al consumo habitual de lácteos fermentados, portadores de lactobacilos que “promovían la salud y prolongaban la vida, al reducir las toxinas que producen las bacterias intestinales” (Rondón, 2009).

Lilly y Stillwell (1965) fueron los primeros en utilizar el término “probiótico” para designar a las sustancias que producen los microorganismos y que promueven el crecimiento de otros. Sin embargo, el concepto sufrió transformaciones a lo largo de todos estos años. Así, numerosos investigadores se circunscriben a designar a los probióticos como aditivos que contienen microorganismos vivos e indican la necesidad de proporcionar una dosis apropiada de bacterias probióticas para obtener los efectos deseados (Fuller, 1989 y Rondón, 2009).

La mayoría de las bacterias utilizadas como aditivos probióticos en los animales rumiantes pertenecen a las especies *Bacillus*, *Enterococcus* y *Lactobacillus*, y entre los hongos destacan *Aspergillus oryzae* y la levadura *Saccharomyces cerevisiae*. En general, los cultivos de bacterias son más utilizados en los animales jóvenes en los que no ha comenzado el proceso de rumia ni el rumen se ha desarrollado por completo (prerrumiantes), mientras que los cultivos fúngicos (principalmente levaduras) se administran a animales con un rumen funcional (animales en cebo o hembras lecheras), aunque las levaduras también pueden ser eficaces en los animales prerrumiantes (Saro *et al.*, 2017).

Las cepas utilizadas como probióticos no deben ser patógenas, no ir asociadas con enfermedades como endocarditis infecciosa y/o trastornos gastrointestinales. Entre las características se destacan (Pino y Dihigo, 2007; del Valle, 2017):

- No ser sensible a las enzimas proteolíticas.
- Ser capaces de sobrevivir el tránsito gástrico.
- Deben ser estables frente a ácidos y bilis y no conjugarse con las sales biliares.
- Tener la capacidad para adherirse a las superficies epiteliales.
- Sobrevivir en el ecosistema intestinal.
- Ser capaces de producir componentes antimicrobianos.
- Deben permanecer vivas y estables durante su empleo.
- Deben tener un mecanismo específico de adhesión al intestino animal.
- Deben ser capaces de crecer rápidamente en las condiciones del ciego.
- Deben ser capaces de inmunoestimular, pero sin efectos proinflamatorios.

Los estudios sobre la aplicación de los probióticos en rumiantes han sido realizados tanto en animales jóvenes pre-rumiantes como en rumiantes adultos, teniendo en cuenta tanto el estado de salud de los animales (reducción de la

incidencia/gravedad de diarreas, presencia de microorganismos patógenos) como parámetros de tipo productivo (Blanch, 2015).

Los problemas entéricos en terneros, son una de las principales causas de pérdidas económicas en la ganadería (Schneider *et al.*, 2000). En décadas pasadas el método más común para prevenir enfermedades y aumentar la eficiencia alimentaría, fue el uso de antibióticos como aditivo alimentario, pero se ha comprobado que tienen influencias negativas en la eubiosis del sistema gastrointestinal, además de que dan lugar a la aparición de la resistencia bacteriana a estos fármacos y a su presencia residual en las carnes, leche y otros productos de origen animal, es por ello que se han introducido los probióticos como una alternativa (García *et al.*, 2005). En la práctica suelen presentarse bajo formas destinadas a ser administradas en el agua o en el pienso. En Cuba se ha incentivado el uso de los probióticos en la crianza de esta especie como aditivo alimentario, ya que estos pueden ser obtenidos a bajo costo con recursos nacionales (Marín *et al.*, 2016).

Los probióticos, una vez que se suministran, desarrollan en el TGI numerosos mecanismos a través de los cuales contribuyen al balance de los microorganismos intestinales y proporcionan una mejora en los procesos digestivos en el hospedero. Estos efectos positivos en el TGI también se reflejan en el rendimiento productivo de los animales (Rondón, 2009).

Entre las funciones que desarrollan los probióticos se considera que modifican la población microbiana intestinal, estimulan el sistema inmunológico, intervienen en los procesos metabólicos, previenen la colonización por patógenos, incrementan la producción de ácidos grasos volátiles (AGV), reducen la absorción de sustancias tóxicas tales como NH<sub>3</sub>, aminas, indol, mercaptanos y sulfitos, disminuyen el colesterol en sangre, sintetizan vitaminas -especialmente vitaminas K y del complejo B- y mejoran la absorción de minerales (Stavric y Kornegay 1995 y Rondón, 2009).



### 2.3.2 Empleo de *Lactobacillus* como probiótico

La utilización de microorganismos probióticos se dirige a dos áreas fundamentales: la salud y la alimentación humana, y la sanidad y producción animal. En el área de la sanidad humana se detentan estudios que implican el papel de la microbiota intestinal en el mantenimiento de la salud, basado en el efecto protector de estos microorganismos (Bengmarck, 1998).

El empleo de los probióticos se asocia con los siguientes efectos benéficos potenciales: Mejoran la digestión de lactosa, reducen la inflamación intestinal, la flatulencia, reducen la incidencia de diarrea después del tratamiento con antibióticos, estimulan el sistema inmune, mejoran la resistencia a las infecciones, reducen la incidencia de reacciones alérgicas, protegen contra algunos tipos de cáncer, reducen los niveles de colesterol y la incidencia de enfermedades cardíacas, etc. (Díaz *et al*, 2006).

El uso de probióticos tiene una serie de exigencias según la especie que se trabaje, debido a que las condiciones del sistema digestivo en los animales varía entre especies, por eso el uso de probióticos se hace selectivo al suministrársele al bovino, equino, ovino y aves diferenciándose del tipo de probiótico a utilizar en cada una de ellas. (Tartar y Vargaz, 1997). En la ganadería se introduce la utilización de probióticos por primera vez por Richar Parker profesor de microbiología de la Facultad de Medicina de Potland durante los años 60, aunque este proceso bacteriológico ha tenido gran impacto a lo largo de la historia por el efecto terapéutico de las bacterias lácticas (Vilenchik, 1989). Estas proporcionan nutrientes digeribles y enzimas digestivas, además producen sustancias antibacterianas contra bacterias nocivas (Vignolo *et al.*, 1996; Tahara *et al.*, 1996; Díaz *et al.*, 2006).

Las bacterias ácido lácticas (LAB) han sido una de las especies más utilizadas como probióticos. Aunque el uso de las LAB para la fermentación y preservación de alimentos y otros productos se reporta desde hace 4000 años, las bases científicas de su acción no han estado nunca muy bien esclarecidas. Sin embargo, en el

pasado siglo , los avances logrados en el campo de la microbiología permitieron la selección de cepas con características específicas para la confección de productos fermentados y preparados probióticos de mayor calidad, así como, el perfeccionamiento y estandarización de métodos adecuados para el cultivo y producción a gran escala de estos microorganismos (Fil, 1992).

Las BAL agrupan un gran número de bacterias Gram positivas que poseen características fisiológicas y metabólicas comunes, pero a veces con poca homología en sus ácidos nucleicos. Su principal característica es la de poseer un metabolismo exclusivamente fermentativo con producciones importantes de ácido láctico a partir de la glucosa, acompañado de ciertas cantidades de otros metabolitos (etanol, CO<sub>2</sub> y otros ácidos orgánicos) El grupo de las bacterias ácido lácticas comprende una gran variedad de géneros y especies, se clasifican atendiendo a que producen como producto final de su metabolismo ácido láctico. El grupo incluye a los *Lactobacillus*, *Carnobacterium*, *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Lactococcus*, *Pediococcus*, *Leuconostoc*, *Sporolactobacillus* y *Bifidobacterium* (Díaz *et al.*, 2006).

El género *Lactobacillus* es miembro de las bacterias ácidas lácticas e incluye un grupo diverso de bacterias que comprenden actualmente 174 especies (Sang *et al.*, 2011). Los lactobacilos son objeto de estudios de muchos autores, debido a su importancia para la producción de alimentos fermentados (Tannock *et al.*, 2004), además, son microorganismos empleados como probióticos, ya que son capaces de reducir los niveles de bacterias patógenas en el tracto intestinal de los animales (Socorro, 2017).

Las cepas de *Lactobacillus* presentan altas potencialidades probióticas, son capaces de resistir a pH bajos, a concentraciones de bilis de 0.15 %, a altas concentraciones salinas y antibióticos y tienen una alta capacidad de recuperación después de la exposición a condiciones drásticas de temperatura y salinidad. (Brizuela *et al.*, 1998; Díaz *et al.*, 2006).

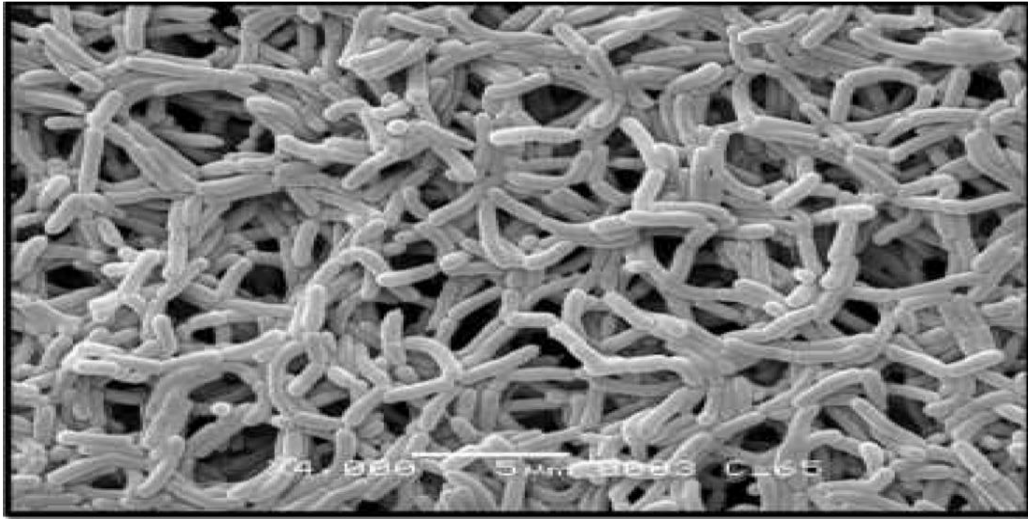
### 2.3.3 Características de *Lactobacillus salivarius*

Taxonómicamente, el género *Lactobacillus* se ubica en la Familia Lactobacillaceae (Kandler y Weiss, 1986; del Valle, 2017) y sus integrantes se caracterizan porque:

- Presentan células en forma de bacilos largos y extendidos, aunque con frecuencia pueden observarse bacilos cortos o coco-bacilos y comúnmente forman cadenas.
- No son motiles en general, pero cuando tienen motilidad es por la presencia de flagelación períttrica.
- Son Gram-positivos y solo las células viejas o muertas pueden dar resultados variables a la tinción de Gram.
- No esporulan y algunas cepas presentan cuerpos bipolares que probablemente contengan polifosfatos.
- Su metabolismo es fermentativo. Producen lactato como producto final; además pueden formar acetato, formiato, succinato, CO<sub>2</sub> y etanol.
- Generalmente no reducen los nitratos, no licuan la gelatina, no producen indol ni H<sub>2</sub>S.
- No producen catalasa, sin embargo, algunas cepas descomponen el peróxido a través de la producción de una pseudocatalasa.
- Generalmente no presentan actividad proteolítica ni lipolítica que pueda apreciarse mediante halos claros formados en medios sólidos que contengan proteínas o grasas. Sin embargo, muchas cepas presentan ligera actividad proteolítica debido a proteasas y peptidasas ligadas a la pared celular o liberadas por esta, así como una débil actividad lipolítica por la acción de lipasas intracelulares.
- Tienen requerimientos nutricionales complejos. Los lactobacilos presentan particularidades para cada especie respecto a los aminoácidos, péptidos, derivados de ácidos nucleicos, vitaminas, sales, ácidos grasos o ésteres de ácidos grasos y carbohidratos fermentables. Requieren no sólo carbohidratos como fuentes de carbono y energía, sino también, aminoácidos, vitaminas y nucleótidos.

- Viven en un rango de temperatura entre 2 – 53 °C, con una temperatura óptima entre 30 – 40 °C.
- Crecen bien en medios ligeramente ácidos, con pH inicial entre 4,5 - 6,4 y con pH óptimo de desarrollo entre 5,5 y 6,2.
- Son generalmente aerotolerantes; su crecimiento óptimo se alcanza bajo condiciones microaerófilas o anaeróbicas y se conoce que un incremento de la concentración de CO<sub>2</sub> (de aproximadamente 5 % o hasta el 10 %) puede estimular el crecimiento, sobre todo en el caso del crecimiento superficial sobre medios sólidos.
- Las principales vías de la fermentación para las hexosas son: la de Embden-Meyerhof, donde se convierte 1 mol de hexosa en 2 moles de ácido láctico por fermentación homoláctica y la vía del 6-fosfogluconato, cuyo resultado es 1 mol de CO<sub>2</sub>, 1 mol de etanol (o de ácido acético) y 1 mol de ácido láctico, por fermentación heteroláctica.

Según Riboulet *et al.* (2012) la especie *Lactobacillus salivarius* se caracteriza por ser una bacteria Gram-positiva, no formadora de esporas con morfología bacilar. Es un organismo homofermentativo (solo produce un subproducto del metabolismo - ácido láctico) que se encuentra naturalmente en las cavidades orales de los humanos y animales, los intestinos y la vagina. Se considera no patógena y se utiliza a veces para producir ácido láctico en los alimentos fermentados, también se emplea como probiótico para ayudar a prevenir las infecciones por otros microorganismos. En la figura 6, se presenta una imagen de la especie *Lactobacillus salivarius*.



**Figura 6.** Microfotografía electrónica de la morfología bacteriana de la cepa *Lactobacillus salivarius* C65 (X4000) (Tomado de Rondón, 2009).

*L. salivarius* se caracteriza por ser una bacteria probiótica muy eficaz, ya que desarrolla un papel muy importante en el mantenimiento del sistema digestivo de forma saludable. Entre sus efectos está mantener el balance microbiano de manera correcta en el intestino y reducir a muchas de las bacterias perjudiciales (Socorro, 2016). Esta bacteria también produce una enzima llamada lactasa, así como bacteriocinas, proteínas o péptidos que son tóxicos para algunos otros tipos de bacterias. Se conoce que es un desafío cultivar a *L. salivarius* en un medio de cultivo con fines de producción; sin embargo, es un microorganismo muy prolífico en el intestino, por lo que es capaz de competir con muchas otras bacterias, entre las que se incluyen los patógenos (Socorro, 2016).

### **2.3.3 Resultados del empleo del *Lactobacillus* como probiótico en terneros.**

En estudios realizados por Soca *et al.* (2011) se evaluó el uso del probiótico Sorbial® en el comportamiento productivo y la salud de terneros en pastoreo, además se analizó la composición bromatológica, el peso vivo, la ganancia media diaria (GMD), el conteo fecal de huevos (CFH) de nemátodos gastrointestinales y el perfil hematológico, obteniéndose como resultado que no se apreciaron acciones

negativas en la salud de los animales, ni enfermedades gastrointestinales (diarreas), el peso vivo mostró diferencias ( $P < 0,05$ ) a favor de los animales del grupo experimental con respecto al control, en cambio, el CFH y los indicadores hematológicos no mostraron diferencias entre los grupos, los cuales se encuentran entre los rangos permisibles para esta categoría de animales.

Hernández (2012) evaluó el efecto de SUBTILPROBIO® como aditivo probiótico en terneros lactantes de la raza Siboney de Cuba. Este aditivo se elaboró con la cepa *Bacillus subtilis* E<sub>44</sub>, se emplearon 30 terneros de siete y nueve días de nacidos, con 15 terneros distribuidos por tratamiento. Para determinar el efecto probiótico de este aditivo se valoró la incidencia de diarreas por animal, el incremento de su peso vivo en diferentes etapas y el peso de incorporación a la unidad de desarrollo. Como resultado se observó que los terneros que consumieron el probiótico tuvieron menor incidencia de diarreas y menor porcentaje de mortalidad durante el periodo evaluado. Se encontraron diferencias al analizar el incremento de peso vivo en los animales que consumieron el aditivo con respecto al grupo control, igualmente el grupo tratado obtuvo un mayor peso de incorporación a la unidad de desarrollo.

Delgado *et al.* (2014) estudiaron el efecto probiótico de *Saccharomyces cerevisiae* en determinados parámetros hemáticos y metabólicos de terneros en pastoreo. Se seleccionaron 40 ejemplares, todos de la raza Siboney de Cuba, con una edad promedio de 180 días y un peso vivo intermedio de 80 kg. Se conformaron dos grupos (control y experimental) de 20 animales cada uno. A todos se le suministró Norgold y, en el experimental, este concentrado se mezcló con 100 mL de cultivo vivo de *S. cerevisiae*. Los estudios hematológicos se realizaron bimensualmente. A cada animal se le extrajo sangre entera por venopunción de la yugular para establecer los valores de hemoglobina, hematocrito, hemograma global y diferencial; para la glucosa en sangre se hizo la prueba de glicemia. Los valores de hemoglobina y hematocrito mostraron diferencias significativas a favor de los obtenidos a partir del grupo experimental; sucedió igual con el comportamiento de la glucosa en sangre.

En estudios realizados por Silva (2013) y del Valle (2017) se demuestra el efecto de biopreparados probióticos en indicadores productivos y de salud en terneros lactantes de la raza Siboney de Cuba. Estos aditivos se elaboraron con las cepas *Bacillus subtilis* C31 y *Lactobacillus salivarius* C65 respectivamente. Para ello se emplearon 48 terneros de 7 y 9 días de nacidos, con 24 terneros distribuidos por tratamiento. Para determinar el efecto probiótico de estos aditivos, se valoró el incremento del peso vivo, la incidencia de diarreas por animal, la mortalidad, resultados hematológicos y coprológicos, así como el peso de incorporación de los animales a la unidad de desarrollo. Como resultado se observó que los terneros que consumieron los biopreparados, manifestaron menor incidencia de diarreas, mejores resultados hematológicos y coprológicos, además diferencias ( $P \leq 0,05$ ) en el incremento de peso vivo en los animales que consumieron el aditivo con respecto al grupo control, igualmente los animales del grupo tratado con *Bacillus subtilis* C-31 mostraron mayor peso de incorporación a la unidad de desarrollo.

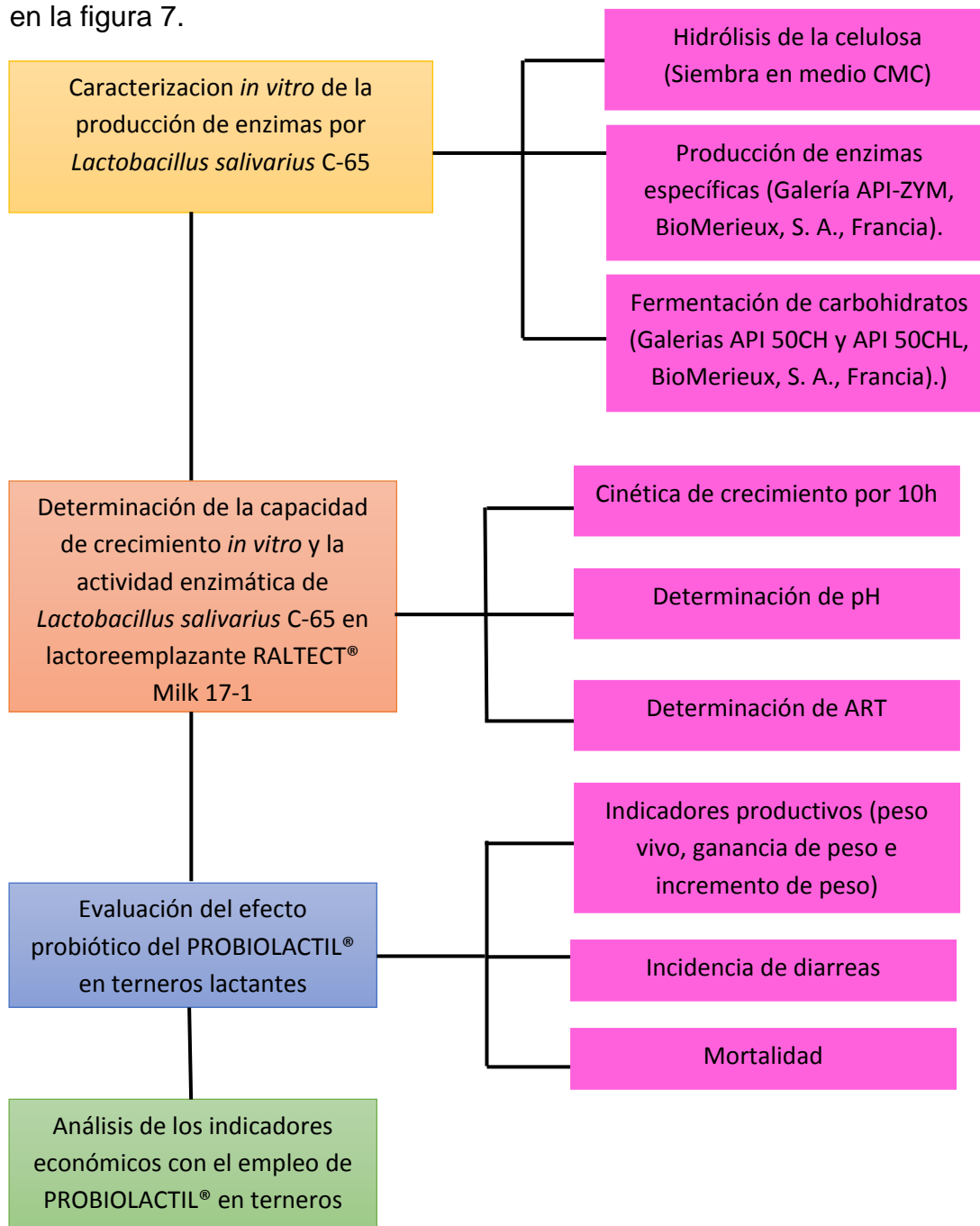
Una reducción significativa en la incidencia de diarrea se obtuvo en terneros alimentados con leche fermentada con cultivos mixtos de bacterias ácido lácticas, o con una mezcla de *L. acidophilus* y la levadura *Sacchromyces cerevisae* (Blanch, 2015). Por su parte Fuller y Gibsen (1997) informaron que la aplicación de bacterias lácticas benéficas a terneros al nacer y mantenidas en los primeros días de vida permiten reducir la aparición de molestias gastrointestinales, hecho que influye positivamente en el desarrollo de los terneros; de igual forma Owen y Larson (1987) plantean que se se manifiesta una disminución de las incidencias de diarreas en terneros que reciben tratamientos con *Lactobacillus* (Elera, 2003).

# *Materiales y métodos*



### 3. MATERIALES Y MÉTODOS

El presente trabajo se desarrolló en tres bloques experimentales, los que se muestran en la figura 7.



**Figura 7.** Bloques experimentales con una descripción general de los materiales y métodos utilizados en el trabajo.

A continuación se describen los materiales y métodos, que de forma general, se utilizaron en toda la secuencia experimental.

### **3.1. Material biológico y medios de cultivo**

#### **3.1.1 Cepa de *Lactobacillus salivarius*.**

La cepa de *Lactobacillus salivarius* C-65 que se utilizó fue aislada por Rondón *et al.* (2012) a partir de la mucosa del ciego de pollos de ceba. Se obtuvo del cepario del Centro de Estudios Biotecnológicos (CEBIO) de la Universidad de Matanzas.

#### **3.1.2 Medios de cultivo**

Medios agar MRS y caldo MRS (De Mann *et al.* 1960) (CONDO, España)

El medio MRS se utilizó en todos los experimentos donde se trabajó con la cepa de *Lactobacillus salivarius*. La composición del medio por litro es la siguiente: dextrosa, 20 g; peptona, 10 g; extracto de carne, 8 g; extracto de levadura, 4 g; citrato de amonio, 2 g; acetato de sodio, 5 g; K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 2 g; MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O, 0,2 g; MnSO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O, 0,05 g y Tween 80, 1 g. El medio sólido se elaboró con la adición de 15 g. L<sup>-1</sup> de agar bacteriológico (BioCen).

#### **3.1.3 Conservación de la cepa**

La cepa de *Lactobacillus* se conservó en tubos de cultivo con tapa de rosca, que contenían medio Tioglicolato (OXOID) semisólido (1 g.L<sup>-1</sup> de agar) con carbonato de calcio (0,1 g por tubo).

### **3.2. Caracterización de la actividad enzimática de *Lactobacillus salivarius* C-65**

#### **3.2.1 Hidrólisis de la celulosa**

Se realizó el cultivo de *Lactobacillus salivarius* C-65 en placas con agar MRS, al que se le sustituyó la glucosa por carboximetil celulosa al 1%. Las mismas se incubaron por 48 h a 37°C (Boxun). Los halos de hidrólisis se revelaron con una solución de rojo congo al 1% expuesta por 15 min. A continuación se retiró el exceso del

colorante y se lava con una solución de NaCl 2 mol.L<sup>-1</sup>. Se deja en reposo 15 min y se observan los halos de hidrólisis alrededor de las colonias.

### **3.2.2 Determinación de la producción de enzimas específicas**

Para la determinación del perfil enzimático, la cepa C65 se cultivó en caldo MRS a 37 °C por 18 h y se siguió la metodología descrita para la utilización del test de galerías API-ZYM (BioMerieux S. A., Francia). Este método consiste en microcápsulas que contienen sustratos cromógenos de enzimas específicas como: fosfatasa alcalina, esterasa (C1), esterasa lipasa (C8), lipasa (C14), leucina arilamidasa, valina arilamidasa, cistina arilamidasa, tripsina, alfa quimotripsina, fosfatasa ácida, naftol-A-S-BI-fosfohidrolasa, alfa galactosidasa, beta galactosidasa, beta glucoronidasa, alfa glucosidasa, beta glucosidasa, N-acetil-B-glucosaminidasa, alfa manosidasa y alfa fucosidasa.

### **3.2.3 Determinación de la capacidad de fermentación de carbohidratos**

Se preparó un cultivo de la cepa en caldo MRS y se incubó a 37 °C durante 24 h. Los cultivos se centrifugaron y lavaron en solución salina al 0,9 % y a partir de este momento, se siguió la metodología descrita para las galerías API 50 CH y API 50 CHL Medium (BioMerieux, S. A., Francia).

## **3.3. Determinación de la capacidad de crecimiento *in vitro* y actividad fermentativa de *Lactobacillus salivarius* C-65 en lactoreemplazante para terneros RALTEC® Milk 17-1**

### **3.3.1 Cinética de crecimiento de *Lactobacillus salivarius* en lactoreemplazante por 10 h**

Para determinar la capacidad de crecimiento se utilizó un diseño completamente aleatorizado con 3 repeticiones. La cepa se cultivó por 18 h (10 LN UFC. mL<sup>-1</sup>) en caldo MRS a 37 °C y se inoculó a razón de 1:10 (v/v) en erlenmeyers que contenían 100 mL de lactoreemplazante para terneros RALTEC® Milk 17-1 (100 g.L<sup>-1</sup> de agua corriente a 55°C) los cuales se incubaron a 37 °C durante 24 horas en condiciones estáticas. El ensayo se realizó por triplicado y se tomaron muestras de los cultivos a las 0, 2, 4, 6, 8, 10 y 24 horas para realizar las siguientes determinaciones:

**Crecimiento microbiano:** Para efectuar el conteo de *Lactobacillus* spp. se realizaron diluciones seriadas de las muestras en una relación de inoculación de 1:10 (v/v) en agua de peptona (OXOID), desde  $10^{-1}$  hasta  $10^{-7}$ . Las tres últimas diluciones se inocularon individualmente (1 mL) a profundidad en placas con agar MRS. Esta operación se replicó tres veces y las placas se incubaron a 37 °C en condiciones de anaerobiosis por 48 h. Posteriormente, el número de unidades formadoras de colonias (UFC) se determinó bajo lupa por conteo visual de colonias.

**Determinación de pH:** La medición de los valores de pH se realizó en un pHmetro digital (Sartorius Meter PP-25) en todos los muestreos.

Determinación de azúcares reductores totales: Preparación del reactivo del ácido 3,5 dinitrosalicílico. Se pesan 5 g de ácido 3,5 dinitrosalicílico, 150 g de tartrato de Na-K y 8 g de NaOH. Se disuelve el NaOH en 200 mL de agua (d) y se añade en agitación el tartrato de Na-K lentamente. Se completa con agua (d) hasta 400 mL y se comienza a añadir lentamente el ácido 3,5 dinitrosalicílico. Se deja en agitación toda la noche, se enrasa a 500 mL y se filtra.

### **3.4 Comprobación de la calidad microbiológica de PROBIOLACTIL®**

#### **3.4.1 Elaboración del biopreparado probiótico**

##### **Material biológico y medios de cultivo**

Cepa de *Lactobacillus salivarius* C-65 procedentes del tracto digestivo de pollos de ceba. La cepa se obtuvo del cepario del Centro de Estudios Biotecnológicos (CEBIO) de la Universidad de Matanzas.

##### **Medios de cultivo**

Inóculo:

- Para *Lactobacillus*: Caldo MRS (De Mann *et al.*, 1960) (CONDO, España).

Medios de cultivo industrial:

- Medio de crecimiento de *Lactobacillus salivarius* (MCLs), elaborado según la metodología de Rondón (2009).

La composición del medio que se diseñó para el crecimiento de *Lactobacillus salivarius* se presenta en la tabla 1.

**Tabla 1.** Formulación del medio MCLs

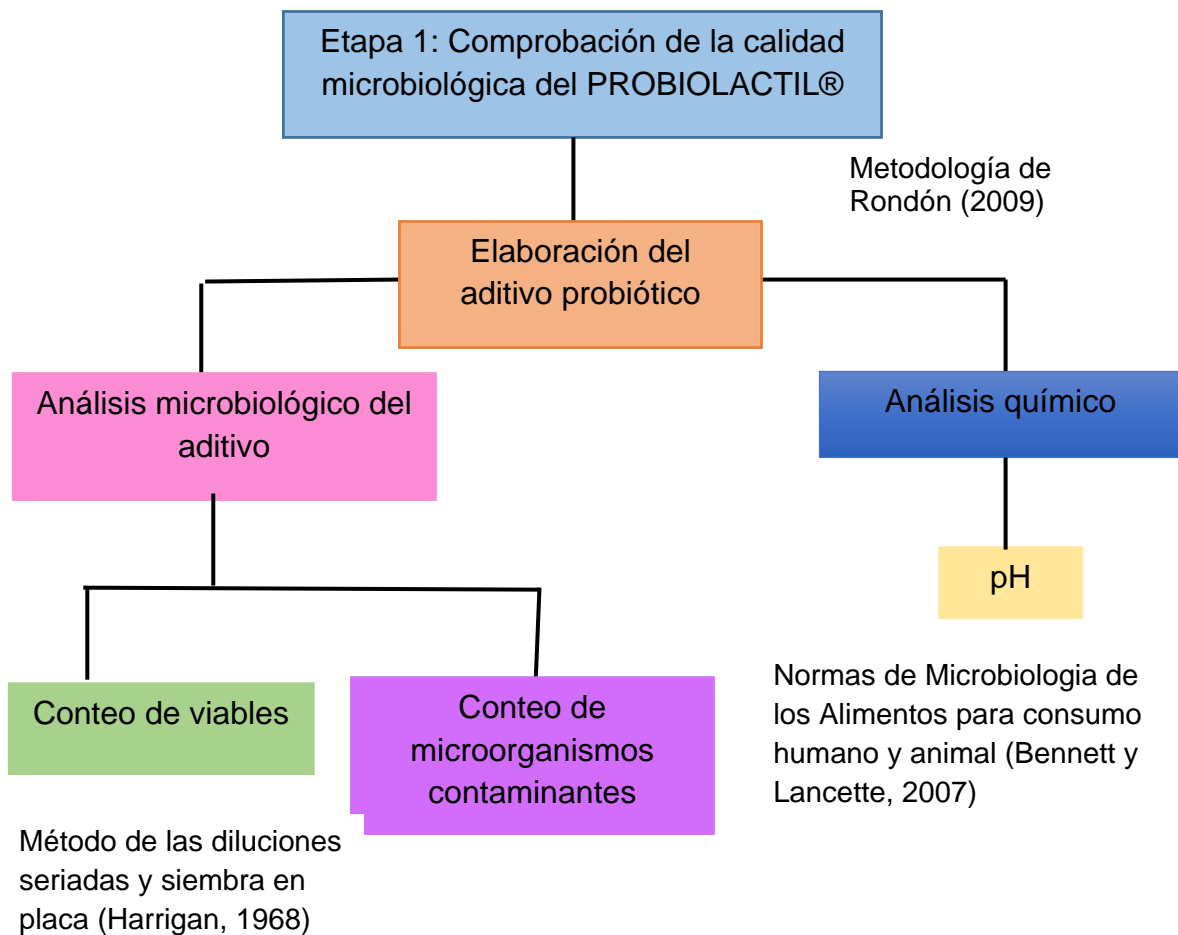
Composición	Unidades.L <sup>-1</sup>
Miel final de caña (58% ART)	30 g
HELSc (17% NT)	210 mL
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	2 g
Citrato de Amonio	5 g
Acetato de Sodio	5 g
MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	0,2 g
MnSO <sub>4</sub> . H <sub>2</sub> O	0,02 g

ART, Azúcares reductores Totales; NT, Nitrógeno Total; pH 6,5 y temperatura de incubación 37 °C.

La elaboración del aditivo probiótico se realizó de acuerdo a la metodología descrita por Rondón (2009) para PROBIOLACTIL®.

### 3.4.2 Análisis microbiológico del biopreparado

Después de la obtención del biopreparado, se procedió al análisis microbiológico, para lo cual se tomaron 3 muestras del cultivo y se procedió a realizar el conteo de células viables y de microorganismos contaminantes. En la figura 8 se muestra un diagrama con la secuencia experimental realizada para la comprobación de la calidad microbiológica y química del biopreparado.



**Figura 8.** Diagrama para la comprobación de la calidad microbiológica y química del PROBIOLACTIL®.

#### Conteo de células viables

Se efectuó el conteo de células viables de *Lactobacillus salivarius* C-65 al biopreparado como se describe a continuación:

Para efectuar el conteo se realizaron diluciones seriadas de las muestras en una relación de inoculación de 1:10 (v/v) en agua de peptona (OXOID), desde  $10^{-1}$  hasta  $10^{-12}$ . Las tres últimas diluciones se inocularon individualmente (1 mL) a profundidad en placas con agar MRS. Esta operación se replicó tres veces y las placas se incubaron a 37 °C en condiciones de anaerobiosis por 48 h. Posteriormente, el número de unidades formadoras de colonias (UFC) se determinó bajo lupa por conteo visual de colonias.

### Conteo de contaminantes en el biopreparado

El conteo se realizó de acuerdo con las normas de Microbiología de los Alimentos para Consumo Humano y Animal NC-ISO (Bennett y Lancette, 2007). Se realizaron diluciones seriadas de las muestras según NC-ISO 6887:2002. Todos los datos presentados son valores medios de tres repeticiones del biopreparado (tabla 2).

**Tabla 2.** Determinación de microorganismos contaminantes.

Pruebas microbiológicas	Referencia NC- ISO
Recuento de coliformes fecales y totales	4832: 2002
Recuento de <i>Pseudomonas auruginosa</i>	4833: 2002
Recuento de <i>Staphylococcus aureus</i>	6888: 2003
Recuento de <i>Bacillus cereus</i>	4833: 2002
Conteo de <i>Salmonella</i> en 25 mL	6579: 2004
Conteo de Enterobacterias	4832: 2002

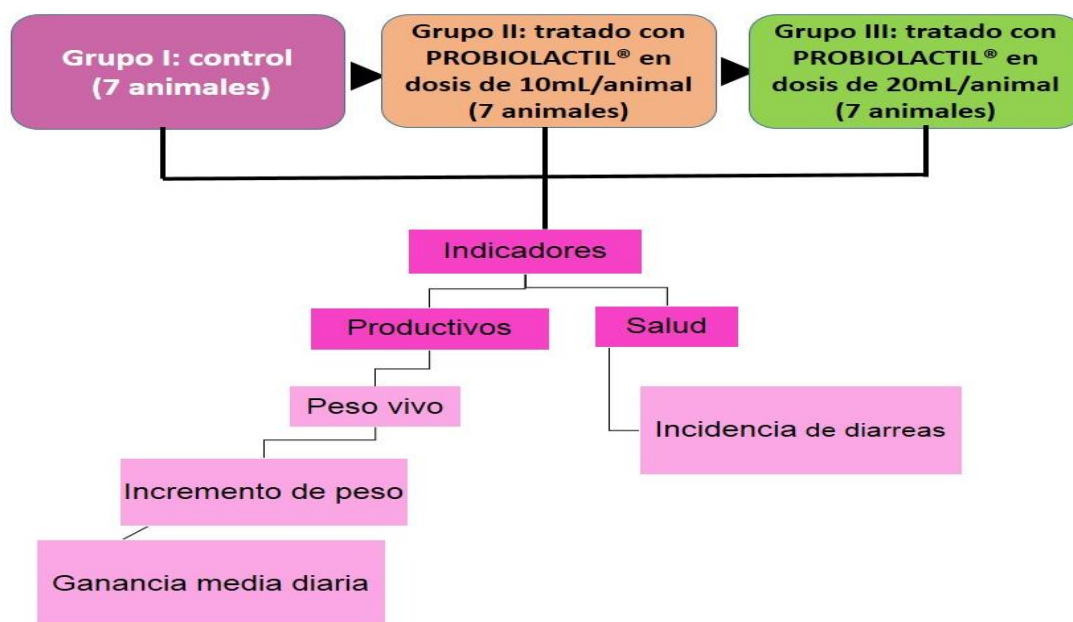
### 3.4.3 Análisis químico

**Determinación del pH:** La medición de los valores de pH a las muestras se realizó en un pHmetro digital (Sartorius Meter PP-25).

### 3.5. Evaluación del efecto probiótico PROBIOLACTIL® en los indicadores productivos y de salud en terneros lactantes.

#### 3.5.1 Condiciones experimentales, diseño y tratamientos

El experimento se realizó en la Recría 306, perteneciente a la Empresa Pecuaria Genética de Matanzas. Se evaluó el efecto del biopreparado PROBIOLACTIL® durante 8 semanas. El trabajo se realizó en los meses abril-mayo de 2018. Se utilizaron 21 animales a partir de 7 semanas (50 días) de edad, típicos de la raza Mambí de Cuba. En la figura 9 se muestra el diagrama de la secuencia experimental.



**Figura 9.** Diagrama de la evaluación del efecto de dos dosis del biopreparado PROBIOLACTIL® en indicadores productivos y de salud en terneros lactantes.

Para el desarrollo del experimento se empleó un diseño completamente aleatorizado con tres grupos experimentales (tratamientos). 1. Grupo control (7 animales); 2. Grupo con la aplicación del biopreparado en dosis de 10 mL por animal al día y 3. Grupo con la aplicación del biopreparado en dosis de 20 mL por animal al día. Los 21 terneros se seleccionaron aleatoriamente con una edad entre 49 y 50



días de nacidos y un peso vivo promedio de 43,9 Kg. En la figura 8 se presenta el diagrama del experimento realizado.

### **3.5.2 Condiciones de manejo y alimentación**

Antes del arribo de los terneros, la nave experimental de la Recría, dedicada a los terneros en destete se sometió a una habilitación sanitaria según lo establecido por el Instructivo Técnico para la crianza de los terneros (1998). Se les suministró la dieta basal a base de pienso completo de lactancia/ lactoreemplazante (Raltec®) o sustituto lácteo y pienso complementario de lactancia (Raltec®).

A continuación se describe la composición de los concentrados y sustitutos lácteos utilizados durante el experimento:

#### **Composición del pienso completo de lactancia/ lactoreemplazante (Raltec®).**

Suero de leche en polvo, manteca de cerdo, suero de leche parcialmente delactosado en polvo, concentrado de proteína de soja (producido a partir de habas de soja modificada genéticamente), lactoalbúmina en polvo, gluten de trigo, almidón de trigo pregelatinizado (contiene organismos genéticamente modificados). En las tablas 3 y 4 se presenta el análisis de los componentes del pienso completo de lactancia y los aditivos presentes.

**Tabla 3.** Análisis de los componentes del pienso completo de lactancia/ lactoreemplazante (Raltec®)

Componentes	%
Proteína bruta	21,30
Fibra bruta	0,7
Aceites y grasas brutos	17
Ceniza bruta	7
Calcio	0,65
Sodio	0,40
Fósforo	0,55
Humedad	5

**Tabla 4.** Aditivos presentes en el pienso completo de lactancia/ lactoreemplazante (Raltec®)

Oligoelementos		
E <sub>4</sub> Cobre (Sulfato cúprico pentahidratado)	10	mg.kg <sup>-1</sup>
E <sub>2</sub> Yodo (Yoduro de potasio)	0,25	mg.kg <sup>-1</sup>
E <sub>1</sub> Hierro (Sulfato ferroso monohidratado)	80	mg.kg <sup>-1</sup>
E <sub>5</sub> Manganeseo (Óxido manganoso)	40,00	mg.kg <sup>-1</sup>
E <sub>6</sub> Zinc (Óxido de zinc)	50,00	mg.kg <sup>-1</sup>
E <sub>8</sub> Selenio (Selenito de sodio)	0,15	mg.kg <sup>-1</sup>
Vitaminas, provitaminas y sustancias químicamente definidas, de efecto análogo		
E672 Vitamina A	30 000,00	U.I.kg <sup>-1</sup>
E671 Vitamina D3	11 000,00	U.I.kg <sup>-1</sup>
Vitamina E	50,00	mg.kg <sup>-1</sup>
Antioxidante		
E321 Butilhidroxitolueno (B.H.T)	50,00	mg.kg <sup>-1</sup>
Digestivos		
1700 <i>Bacillus licheniformis</i> (DSM 5749), <i>Bacillus subtilis</i> (DSM 5750)	1,28x10 <sup>9</sup>	UFC.kg <sup>-1</sup>

**Composición del pienso complementario de lactancia (Raltec®).**

Maíz (contiene organismos genéticamente modificados), cebada, harina de extracción de soja tostada y decorticada (producido a partir de habas de soja modificada genéticamente), trigo, aceite vegetal de coco, aceite vegetal de palma, suero de leche, Fosfato bicálcico, Carbonato de calcio, Cloruro de sodio, harinillas de trigo. En las tablas 5 y 6 se describe el análisis de los componentes del pienso complementario y los aditivos presentes en el pienso.

**Tabla 5.** Componentes analíticos del pienso complementario de lactancia (Raltec®).

Componentes	%
Proteína bruta	16
Fibra bruta	4,5
Aceites y grasas brutos	4,30
Ceniza bruta	7,96
Calcio	0,9
Sodio	0,31
Fósforo	0,67
Humedad	10,8

**Tabla 6.** Aditivos presentes en el pienso complementario de lactancia (Raltec®).

Vitaminas, provitaminas y sustancias químicamente definidas de efecto análogo		
Vitamina A (Retinol) E-672	10 200,0	U.I.kg <sup>-1</sup>
Vitamina D3 (Colecalciferol) E-671	1 140,0	U.I.kg <sup>-1</sup>
Vitamina E (acetato de todo-rac-a-Tocoferilo)3a700	45,0	mg.kg <sup>-1</sup>
Antioxidante		
E321 Butilhidroxitolueno (BHT)	100,0	mg.kg <sup>-1</sup>
Conservantes		
E330 Ácido cítrico	60,0	mg.kg <sup>-1</sup>
Antiaglomerantes		
E551b Sílice Coloidal	1 000,0	mg.kg <sup>-1</sup>
1m558i Bentonita	500,0	mg.kg <sup>-1</sup>
E562 Sepiolita	10 000,0	mg.kg <sup>-1</sup>
Oligoelementos		
Hierro (Sulfato ferroso monohidratado) E1	60,00	mg.kg <sup>-1</sup>
Yodo (Yoduro de potasio) E2	3,00	mg.kg <sup>-1</sup>
Cobre (Sulfato cúprico pentahidratado) E-4	15,00	mg.kg <sup>-1</sup>
Manganeso (Óxido manganoso) E5	34,40	mg.kg <sup>-1</sup>
Zinc (Óxido de zinc) E6	58,60	mg.kg <sup>-1</sup>
Selenio (Selenito de sodio) E8	0,40	mg.kg <sup>-1</sup>
Digestivos		
E1704 <i>Saccharomyces cerevisiae</i> CBS 493,94	2x10 <sup>9</sup>	UFC.kg <sup>-1</sup>

En la tabla 7 se aprecian las diferentes vacunas, antiparasitarios y antibióticos aplicados a los terneros.

**Tabla 7.** Esquema de vacunación y de salud, según Instructivo técnico para la crianza artificial de terneros (1998)

Medicamentos	Dosis
Vacunas	
Septicemia hemorrágica bovina	3 mL
Carbunco sintomático	5 mL
Antiparasitarios	
Labiomed	1 mg/kg PV
Gavac®	2 mL
Antibióticos y reconstituyentes	
Eritromicina	2-4 mg.kg <sup>-1</sup> de PV (0,04-0,08 mL.kg <sup>-1</sup> )
Tilosina	110 mg.kg <sup>-1</sup>
Dextrosa 5%	400-800 mL.kg <sup>-1</sup>

### 3.5.3 Evaluación de indicadores productivos y de salud

**Indicadores productivos:** El peso vivo se comprobó al medir el perímetro torácico del animal con la cinta métrica, auxiliándose de la tabla de conversión elaborada por Corzo *et al.* (1999). En la tabla 8 se presentan los cálculos realizados para cada indicador evaluado.

**Tabla 8.** Formulario para determinar los indicadores productivos según Instructivo técnico para la crianza artificial de terneros (1998).

Indicadores	Fórmulas
Peso vivo (PV)	En cada momento de muestreo
Incremento de peso (IP)	$IP = PF - PI$ (PF: Peso final; PI: Peso inicial)
Ganancia media diaria (GMD)	$GMD = (PF - PI) / 42 \text{ días}$ PF= peso final PI= peso inicial

**Indicadores de salud.** Se evaluó la incidencia de diarreas. Se realizó por el método visual, a través de la inspección clínica de los animales diariamente.

### 3.6. Estudio preliminar de los beneficios económicos que aporta la aplicación de dos dosis del biopreparado en terneros lactantes

Para determinar los beneficios económicos que aporta la aplicación de las dosis del aditivo zootécnico en estos animales se procedió a la búsqueda de la información económica necesaria para cada uno de los elementos o componentes que intervienen en el proceso.

Para calcular los costos de producción se tuvieron en cuenta: el costo del biopreparado, de los terneros, del sustituto lácteo, salario de los trabajadores, precio de los kg de peso vivo, precio de vacunas y antibióticos que se utilizaron.

Se calcularon además los siguientes indicadores (Vega *et al.*, 2001):

Ingresos = Peso vivo x precio de venta

$$\text{Costo por peso} = \frac{\text{Costos totales}}{\text{Ingresos}}$$

Ganancia = Ingresos – Costos totales

Costos Totales = costos fijos + costos variables

$$\text{Rentabilidad} = \frac{\text{Ganancia}}{\text{Costo total}} \times 100$$

### **3.7. Análisis estadístico**

Las variables peso vivo inicial y final (PV inicial y PV final) e incremento de peso vivo (IPV) se evaluaron mediante la aplicación de un modelo de análisis de varianza simple, previa comprobación de la distribución normal de los datos y de la homogeneidad de varianza. Donde existieron diferencias se aplicó la dócima de comparación de Duncan (1955). Todas las pruebas se realizaron mediante el Software estadístico Statgraphics Versión 5.1 (2002). Para analizar estadísticamente los resultados de la incidencia de diarreas se empleó el programa ComparPro versión 1 (Font *et al.*, 2007).

# *Resultados y discusión*

## 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1. Caracterización *in vitro* de la actividad metabólica de *Lactobacillus salivarius* C-65.

En la tabla 9 se muestran los resultados de la evaluación de la cepa C65 en la fermentación de los carbohidratos. De los sustratos que se evaluaron, 14 de ellos se utilizaron por las bacterias. Este resultado indica que el microorganismo en estudio presenta baterías enzimáticas encargadas de catalizar la fermentación de diferentes carbohidratos.

Los lactobacilos tienen un metabolismo fermentativo, son principalmente aerotolerantes y otras especies son estrictamente anaeróbicas. El crecimiento se da a un pH de 4,5-5,8. Son exigentes en cuanto a aminoácidos, péptidos, nucleótidos, vitaminas, minerales, ácidos grasos y carbohidratos. Se clasifican en homolácticos y heterolácticos con base en la vía de fermentación que utilizan. En condiciones de exceso de glucosa y un limitado uso de oxígeno, los homolácticos transforman un mol de glucosa a través de la vía glucolítica de Embden-Meyerhof-Parnas para formar dos moles de piruvato. El balance redox intracelular se mantiene por la oxidación de NADH con la concomitante reducción del piruvato en ácido láctico. Este proceso genera dos moles de ATP por cada mol de glucosa consumida (Jurado-Gamez *et al.*, 2013).

Las bacterias ácido-lácticas se estudian por su capacidad de crecer en ambientes difíciles y generar antagonismos con otros microorganismos. A partir de estos azúcares se producirán ácidos orgánicos como el ácido láctico, el cual es una de las sustancias inhibidoras del crecimiento de los microorganismos patógenos (Jurado-Gamez y Jarrín-Jarrín, 2015).

Estos resultados pueden relacionarse con lo que sucede a nivel del TGI, ya que se conoce que en este ecosistema los microorganismos producen ácidos grasos de cadena corta (AGCC) producto de la fermentación de muchos de estos carbohidratos. Estos compuestos son los principales productos finales de la fermentación bacteriana, regulan el desarrollo celular y la diferenciación, además

**Tabla 9.** Perfil de fermentación de carbohidratos de la cepa C65 de *Lactobacillus* spp. evaluadas.

Carbohidratos	C65
Control	-
Glicerol	-
Eritritol	-
D-Arabinosa	-
L-Arabinosa	-
Ribosa	-
D-Xilosa	-
L-Xilosa	-
Adonitol	-
$\alpha$ -Metil-D-Xilosida	-
Galactosa	+
D-Glucosa	+
D-Fructosa	+
D-Mannosa	+
L-Sorbosa	-
Ramnosa	-
Dulcitol	-
Inositol	-
Mannitol	+
Sorbitol	+
$\alpha$ -Metil-D-Mannoside	-
$\alpha$ -Metil-D-Glucoside	-
N-Acetil-Glucosamina	+
Amigdalina	-
Arbutina	-
Esculina	-
Salicina	-
Celobiosa	-
Maltosa	+
Lactosa	+
Melibiosa	+
Sacarosa	+
Trehalosa	+
Inulina	+
Melezitosa	-
D-Rafinosa	+
Almidón	-
Glucógeno	-
Xilitol	-
$\alpha$ -Gentobiosa	-
D-Turanosa	-
D-Lixosa	-
D-Tagatosa	-
D-Fucosa	-
L-Fucosa	-
D-Arabitol	-
L-Arabitol	-

+ Reacción positiva, - Reacción negativa,  $\pm$  Reacción dudosa.



de tener efectos tróficos o nutritivos sobre el epitelio intestinal, lo cual contribuye a la recuperación de los efectos inflamatorios y a la reducción de los riesgos de translocación bacteriana durante la alteración de la barrera intestinal (Kolb 1976).

De ahí que si se aplican estas bacterias a la dieta, las mismas contribuirían al aporte de AGCC como fuente de energía para los animales, ya que estos ácidos se producen en el TGI, se metabolizan en la mucosa y son transportados eficientemente, por lo que cantidades considerables pueden llegar a sangre para su utilización posterior. Se considera que el aporte de los AGCC es de 25-30 % para los requerimientos energéticos del mantenimiento en cerdos, 50 % en conejos y 17 % en pollos (Savón, 2005). De manera que si se produce en el intestino un incremento de los AGCC, habrá mayor biodisponibilidad de estas sustancias como fuentes de energía (Rondón y Laurencio, 2008).

Se comprobó que *Lactobacillus salivarius* C-65 fermenta la lactosa. Se conoce que este disacárido no puede asimilarse en su forma natural, es necesario hidrolizarla para poder asimilar los monómeros que se generan: glucosa y galactosa. La capacidad de producir la  $\beta$ -galactosidasa, enzima responsable de la hidrólisis en el intestino delgado, disminuye a medida que el individuo crece, y cuando llega a la edad adulta es probable que haya perdido parcial o totalmente la actividad de hidrólisis en su intestino. Esto provocará que cuando consuma lactosa, ya sea en leche o sus derivados, se presente un cuadro de flatulencia, dolor abdominal y/o diarrea, denominado “intolerancia a la lactosa” (Sánchez *et al.*, 2015).

Otro resultado importante es la fermentación de la inulina, debido a que algunos autores como Ayala *et al.* (2018) refieren que esta sustancia estimula el desarrollo de bacterias ácido lácticas. En este sentido, del Valle (2017) elaboró un biopreparado simbiótico con *Lactobacillus salivarius* y pulpa de henequén (*Agave fourcroydes* Lem.) rica en inulina y demostró que la aplicación de este bioproducto en terneros provocaba el incremento de peso y disminuía la incidencia de terneros en estos animales.

La producción de enzimas por parte de la cepa se representa en la tabla 10. De 19 sustratos presentes en los Test API-ZYM, nueve se utilizaron por la cepa, al producir las enzimas específicas de cada reacción.

**Tabla 10.** Perfil enzimático de las cepas de *Lactobacillus* spp. que se evaluaron.

Sustrato	Enzima	C65
Control	Control	-
2-naftil fosfato	Fosfatasa alcalina	2
2-naftil butirato	Esterasa (C1)	-
2-naftil caprilato	Esterasa Lipasa	-
2-naftil miristato	Lipasa (C14)	2
L-leucil-2-naftilamida	Leucina arilamidasa	5
L-valil-2-naftilamida	Valina arilamidasa	4
L-cistil-2-naftilamida	Cistina arilamidasa	4
N-benzoil-DL-arginina-2naftilamida	Tripsina	-
N-glutaril-fenilalanina-2naftilamida	$\alpha$ -Quimotripsina	-
2-naftil-fosfato	Fosfatasa ácida	4
Naftol-AS-BI-fosfato	Naftol-A-S-BI fosfohidrolasa	5
6-Br-2-naftil-aD-galactopiranosido	$\alpha$ -galactosidasa	3
2-naftil-bD-galactopiranosido	$\beta$ -galactosidasa	5
Naftol-AS-BI-bD-glucurónido	$\beta$ -glucuronidasa	-
2-naftil-aD-glucopiranosido	$\alpha$ -glucosidasa	-
6-BR-2-naftil-bD-glucopiranosido	$\beta$ -glucosidasa	-
1-naftil-N-acetil-bD-glucosaminido	N-acetil- $\beta$ -glucosaminidasa	-
6-BR-2-naftil-aD-mannopiranosido	$\alpha$ -manosidasa	-
2-naftil-aL-fucopiranosido	$\alpha$ -fucosidasa	-

Los valores numéricos son rangos de intensidad del color en el Test, que van desde 0 (-) (reacción negativa) hasta 5 (actividad máxima).

Se demostró fuerte acción por la producción de peptidasas (leucina, valina y cistina aminopeptidasa), fosfatasas, fosfohidrolasas y galactosidasas. Rada (1997) realizó un estudio enzimático de varias especies de *Lactobacillus* y *Bifidobacterium*, entre

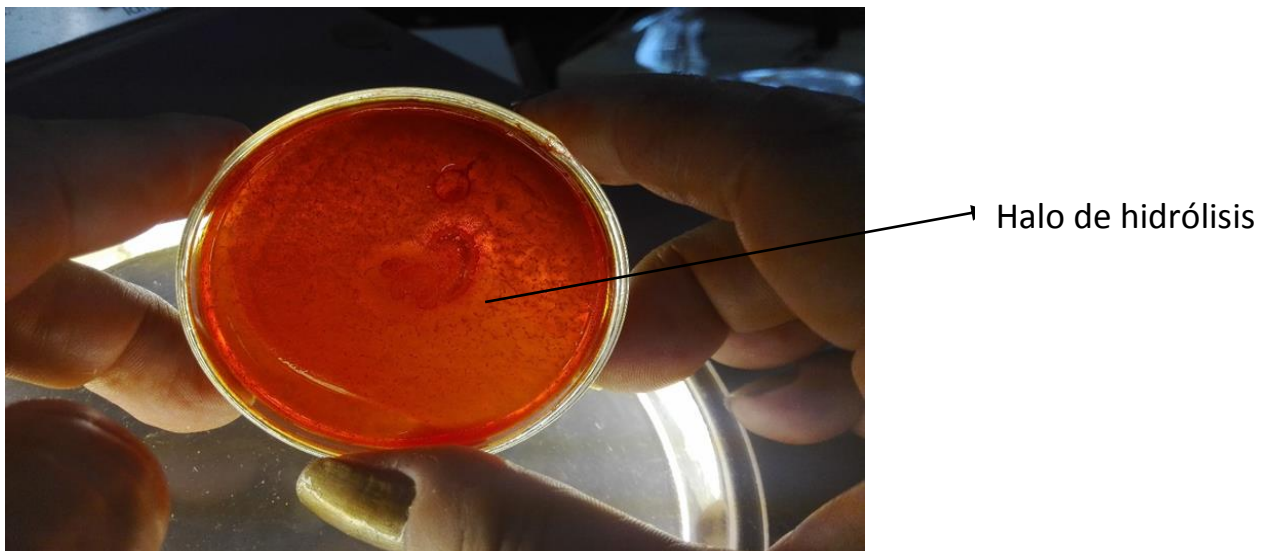
las que se incluían 3 especies de *Lactobacillus salivarius* aisladas de heces y ciegos de pollos y obtuvo similares resultados.

Se plantea que la ingestión de bacterias ácido lácticas, que producen y liberan enzimas hidrolíticas, puede ayudar a la digestión de los animales de granja (Rondón, 2009). La cepa C65 que se evaluó produce  $\beta$ -galactosidasa, enzima que contribuye a la digestión de la lactosa en el TGI (Rondón, 2009).

Un aspecto importante a destacar es precisamente la no producción de  $\beta$ -glucuronidasa y  $\beta$ -glucosidasa, enzimas que generan la liberación de sustancias tóxicas o carcinógenas a partir de complejos inocuos en el TGI (Rondón, 2009).

### **Hidrolisis de la celulosa**

En la figura 10 se puede observar el resultado de la prueba de la descomposición de la celulosa por *Lactobacillus salivarius* C65. En la imagen se puede apreciar el halo de hidrólisis alrededor de la colonia crecida en agar MRS con carboximetilcelulosa como fuente de carbono.



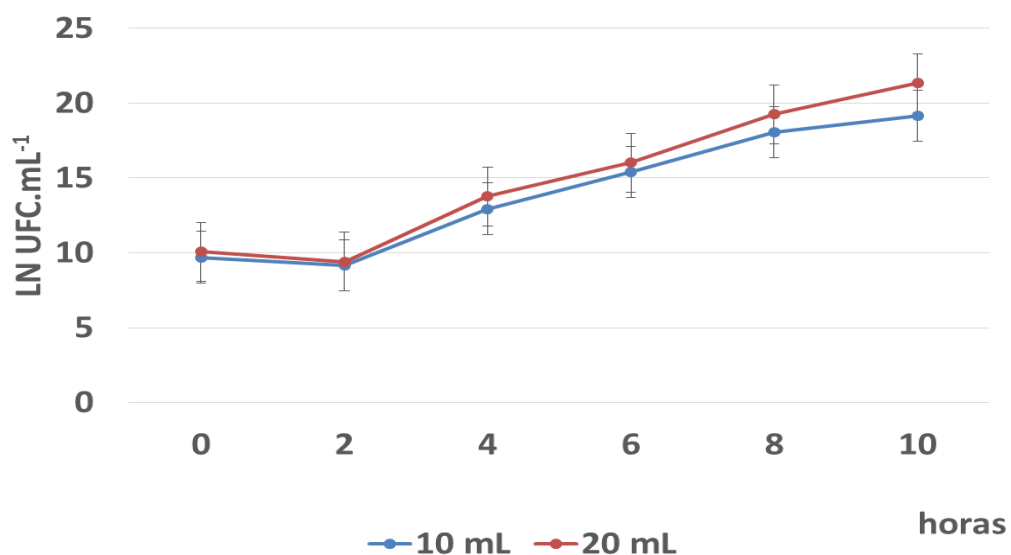
**Figura 10.** Crecimiento de *Lactobacillus salivarius* en CMC con presencia de halo de hidrólisis.

Este resultado constituye una novedad, ya que no se hace referencia a esta característica en la bibliografía consultada. En este sentido se reporta por Herdian *et al.* (2018) que algunas BAL, como *Pediococcus acidilactici* MK 20, que se aisló de la región del colon de un pato indonesio llamado Mentok, se seleccionó por la mayor actividad celulolítica, con el diámetro de la zona de hidrólisis y el valor de CMC<sub>case</sub> de 2,33 mm y 0,0153 U/mL, respectivamente. Otros autores como Frediansyah y Kurniadi (2017) observaron la producción de celulasas en la harina de yuca (*Manihot esculenta*) por parte de *Lactobacillus plantarum*.

La manifestación de esta característica tiene gran significación ya que indica que esta bacteria es capaz de producir enzimas que intervienen en la descomposición de la celulosa, componente presente en las paredes celulares de los vegetales. Se conoce que los animales no producen estas sustancias, por lo que requieren de los microorganismos celulolíticos del tracto para obtener estos alimentos. La celulosa es la fuente de carbono renovable más abundante de la Tierra. Sin embargo, la estructura de este polímero constituye una barrera física y química para acceder al carbono, lo que ha limitado el aprovechamiento del mismo. En la naturaleza, un pequeño porcentaje de microorganismos pueden degradarla a través de la expresión de celulasas (Gutiérrez *et al.*, 2015). Por otra parte, se pudiera pensar en este microorganismo como aditivo en ensilajes para mejorar el proceso en la conservación de pastos.

#### **.4.2. Determinación de la capacidad de crecimiento *in vitro* y la actividad enzimática de *L. salivarius* C-65 en el lactoreemplazante para terneros RALTEC Milk 17-1.**

En la figura 11 se presenta el comportamiento de la población de *Lactobacillus salivarius* C65. Se aprecia como a las 24 horas las dos dosis de esta bacteria crecieron por encima de 15 Log UFC.mL<sup>-1</sup>. Se comprobó que a esa hora se presentaron diferencias entre ambos tratamientos al constatarse mayor conteo con el inóculo de 20 mL.



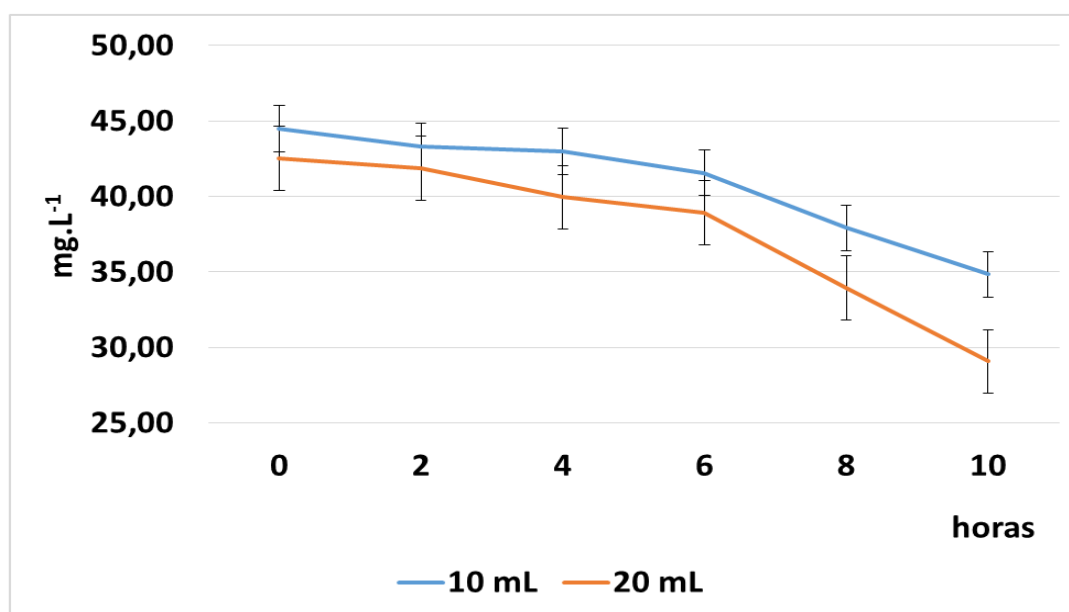
**Figura 11.** Cinética de crecimiento de *Lactobacillus salivarius* en lactoreemplazante RALTEC® con dos dosis. Las barras representan el error estándar. Se presentaron diferencias a las 10 h para  $p \leq 0,05$  (Duncan, 1955).

Estos resultados concuerdan con la actividad metabólica demostrada anteriormente, ya que el sustituto lácteo o lactoreemplazante es rico en diferentes azúcares y proteínas que pueden utilizarse por estos microorganismos. De ahí que estos puedan multiplicarse hasta más de 15 LN UFC.mL<sup>-1</sup> en este alimento y colonizar posteriormente el tracto digestivo.

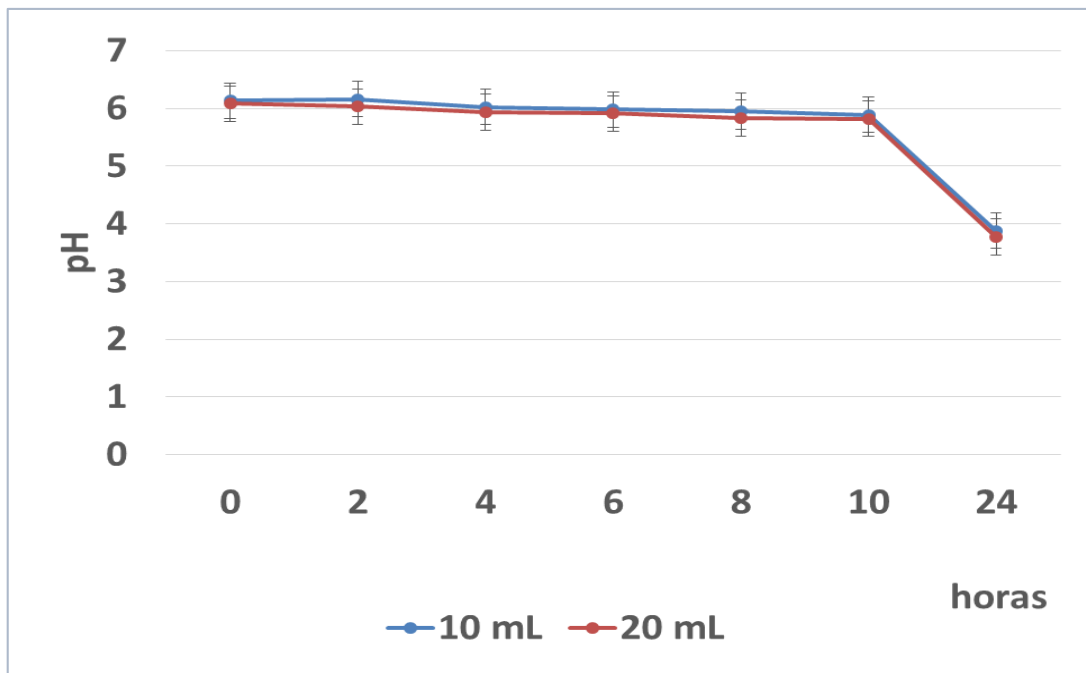
En Cuba, los sistemas de crianza artificial ofrecen reemplazantes lecheros hasta edades avanzadas (entre 90 y 120 días de edad), echo que incrementa los costos de alimentación del ternero, unido a que en la actualidad no se producen en el país estos alimentos para sustituir importaciones, por lo que toda la alimentación líquida del ternero, se garantiza con estos alimentos importados (Alonso *et al.*, 2016). Estos microorganismos cuando crecen en el lactoreemplazante deben mejorar su digestibilidad al lograr tratar enzimáticamente a este sustituto lácteo y descomponer los azúcares a ácidos grasos de cadena corta, los cuales aportan energía a estos animales.

En la figura 12 se presenta el comportamiento de los azúcares reductores totales en el lactoreemplazante con el crecimiento de *Lactobacillus salivarius* C65. Se observa como disminuyeron paulatinamente los azúcares en el sustrato empleado a medida que fue pasando el tiempo. Se observa que en el tratamiento con 20 mL, a las 24 h disminuyó notablemente la concentración de estos azúcares, debido fundamentalmente a su utilización como fuentes de energía o para sintetizar sustancias necesarias para su estructura o metabolismo.

En la figura 13 se corroboran estos resultados ya que se aprecia cómo se comportó el pH durante todo en ensayo. A las 24 h en el tratamiento 2, el pH estaba en 3,8, lo cual indica que la bacteria produjo ácidos en concentraciones elevadas para una consecuente disminución del pH. Se conoce que las BAL producen ácidos orgánicos, en especial ácido láctico, que modifica el pH del medio.



**Figura 12.** Comportamiento de los azúcares reductores con la aplicación de dos dosis de PROBIOLACTIL en lactoreemplazante RALTEC®. Las barras representan el error estándar. Se presentaron diferencias a las 10 h para  $p \leq 0,05$  (Duncan, 1955).



**Figura 13.** Cinética del pH con la aplicación de dos dosis de PROBIOLACTIL® en lactoreemplazante RALTEC®. Las barras representan el error estándar. No se presentaron diferencias para  $p \leq 0,05$  (Duncan, 1955).

#### 4.3. Comprobación de la calidad microbiológica de PROBIOLACTIL®

Los resultados de la caracterización microbiológica del cultivo aparecen en la tabla 11. Se puede apreciar que el preparado probiótico alcanzó altos niveles de lactobacilos, sin presencia de contaminantes. Las condiciones de asepsia a nivel de laboratorio y la producción de sustancias antimicrobianas (ácidos y probablemente bacteriocinas) favorecieron la no proliferación de agentes microbianos extraños durante todo el período de conservación. Estos resultados coinciden con lo descrito por Rondón (2009), quien elaboró la metodología para la obtención de este producto.

Tabla 11. Caracterización microbiológica del biopreparado probiótico.

Microorganismos	PROBIOLACTIL®
<b>Población microbiana</b>	
<i>Lactobacillus salivarius</i>	12 Log UFC. mL <sup>-1</sup>
<i>Bacillus subtilis</i>	-
<b>Microorganismos contaminantes</b>	
Coliformes totales	< 10 UFC. mL <sup>-1</sup>
Coliformes fecales	< 10 UFC. mL <sup>-1</sup>
Hongos	< 10 UFC. mL <sup>-1</sup>
Levaduras	< 10 UFC. mL <sup>-1</sup>
<i>Salmonella</i>	negativo
<i>Staphylococcus</i>	< 10 UFC. mL <sup>-1</sup>
<i>Bacillus cereus</i>	< 10 UFC. mL <sup>-1</sup>

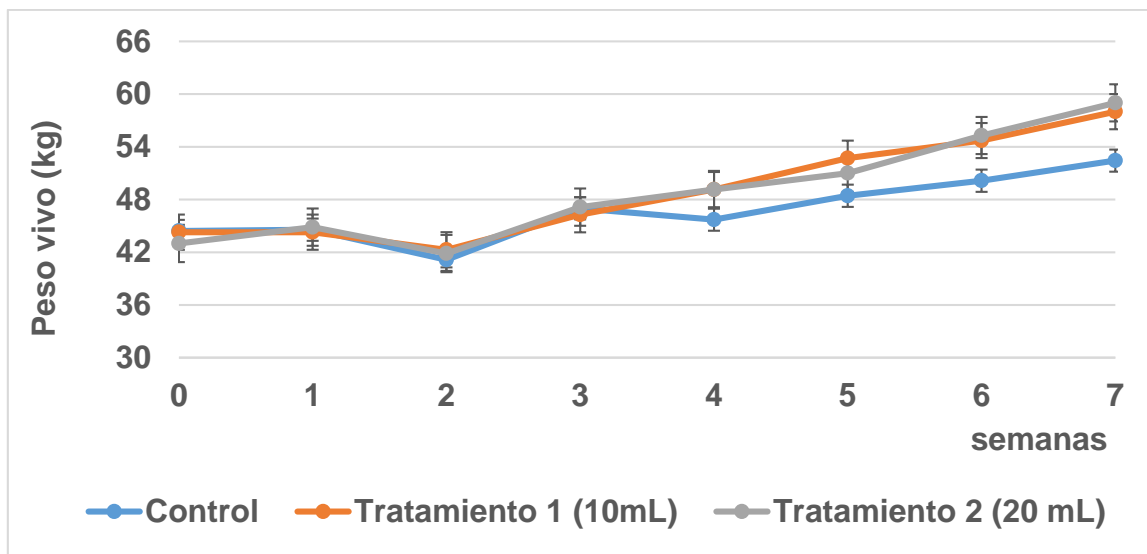
Se comprobó que el pH del aditivo elaborado se comportó de acuerdo a las normas de calidad que se establecieron en la metodología descrita por Rondón (2009). Se observó un pH de 3,8 (DE: 0,83).

Se comprobó que el biopreparado está libre de contaminantes, aspecto que debe ser confirmado antes de suministrar estos aditivos a los animales, no solo por un problema de bioseguridad, también para que no exista interferencia microbiana en los efectos que éstos puedan causar en el tracto digestivo.

#### 4.4. Evaluación del efecto probiótico del PROBIOLACTIL® en indicadores productivos y de salud de terneros lactantes

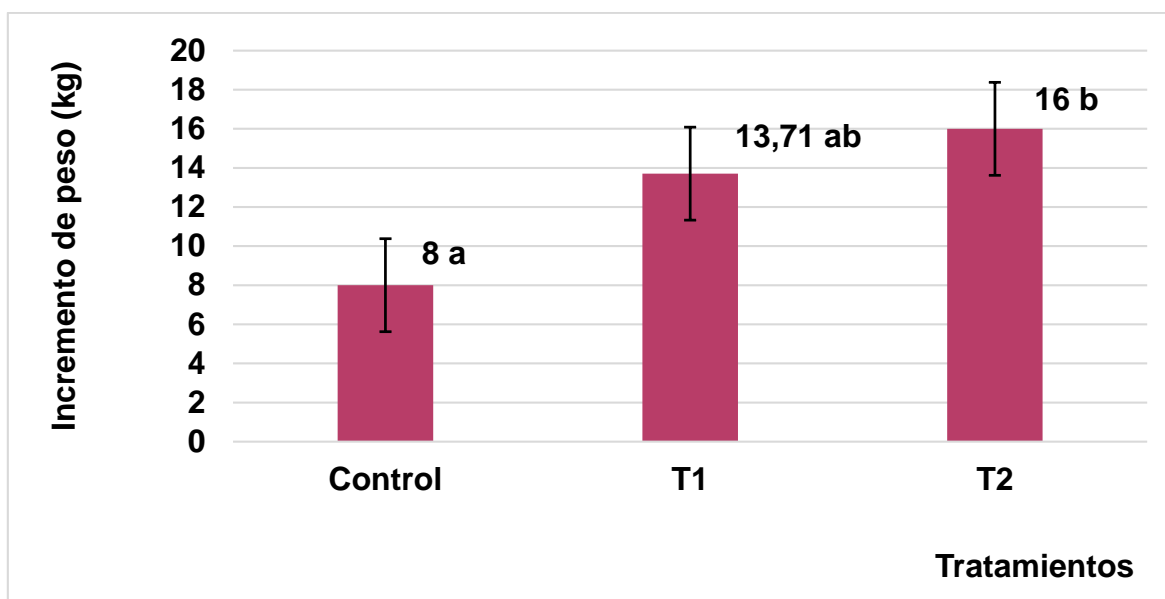
En la figura 14 se aprecia que los terneros que consumieron el biopreparado probiótico no manifestaron diferencias en el peso vivo durante todo el experimento. Aunque se observa una tendencia a la mejora de este indicador, la variabilidad de los datos fue muy alta lo cual incidió en que estadísticamente no hubieran diferencias.





**Figura 14.** Comportamiento del peso vivo durante el desarrollo del experimento. Las barras representan el error estándar. No se presentaron diferencias para  $p \leq 0,05$  (Duncan, 1955).

Sin embargo en figura 15 se observan diferencias en el incremento de peso al final del experimento, donde el tratamiento 2 mostró los mejores resultados.



**Figura 15.** Incremento de peso de los terneros después de 7 semanas de tratamiento. Las barras representan el error estándar. Se presentaron diferencias a las 7 semanas para  $p \leq 0,05$  (Duncan, 1955).

Estos resultados pueden estar asociados a que los probióticos y prebióticos, una vez que se suministran, inducen en el tracto gastrointestinal (TGI) numerosos mecanismos a través de los cuales se favorece un balance de los microorganismos intestinales y proporcionan una mejor respuesta de los procesos digestivos en el hospedero (Flores, 2015).

De acuerdo a estos resultados se demuestra la importancia de incorporar microorganismos nativos en la dieta de estos animales para mantener el balance microbiano. Sánchez *et al.* (2015) expresó que los probióticos pueden soportar condiciones específicas ocurridas en el TGI; estos pueden resistir por más de 4 horas a las enzimas proteolíticas, los bajos valores de pH (1,8-3,2) prevalentes en el estómago y la concentración de bilis, jugos pancreáticos y mucus presentes en el intestino delgado, de forma tal que los microorganismos colonizadores lleguen en estado viable y en cantidades suficientes, una vez que han superado las barreras ácida y biliar en el tracto digestivo.

Existen evidencias de que al utilizar los microorganismos probióticos, fundamentalmente cepas de *Lactobacillus* spp., ya sean monocultivos o mezclas (prebióticos), se incrementa la retención de los nutrientes incluidos en la dieta. La retención aparente de nutrientes (cantidad de nutrientes consumidos menos la cantidad de nutrientes excretados) se favorece cuando se utilizan probióticos, fundamentalmente por la retención de N, P y Ca (Ángel *et al.*, 2005).

Estos resultados concuerdan con los obtenidos por Zhang *et al.* (2016), quienes estudiaron el efecto de probióticos *Lactobacillus plantarum* GF103 y *Bacillus subtilis* B27. Estos autores refirieron una mejora de la digestibilidad de los nutrientes y los rendimientos productivos.

Flores (2015) evaluó el efecto de un probiótico en indicadores productivos y de salud en terneros lactantes de la raza Mambí de Cuba. Este aditivo (PROBIOLACTIL®) se elaboró con la cepa *Lactobacillus salivarius* C-65 y se emplearon 24 terneros entre 7 y 9 días de nacidos, con 12 terneros distribuidos por cada tratamiento. Para determinar el efecto probiótico de este biopreparado, se midió el incremento del

peso vivo, la incidencia de diarreas, la mortalidad y la infestación parasitaria. Como resultado se obtuvo que los terneros que consumieron el aditivo alimentario, manifestaron menor incidencia de diarreas y observaron diferencias ( $P \leq 0,05$ ) en el incremento de peso vivo con respecto al grupo control. De manera similar Malik y Bandla (2010), demostraron que la administración del probiótico *Lactobacillus acidophilus* mejoró el aumento de la ganancia de peso diaria (ADG) y la eficiencia en la digestión del forraje (EF).

En la tabla 12 se observan las proporciones del comportamiento de la incidencia de diarreas en los animales que consumieron el PROBIOLACTIL® con respecto al grupo control. Se pudo comprobar que durante el experimento a partir de la segunda semana no se observaron diarreas en los animales del tratamiento III y a partir de la tercera semana no se presentaron diarreas en el grupo II. Tabla 12. Incidencia de diarreas a lo largo del experimento.

**Tabla 12.** Incidencia de diarreas a lo largo del experimento.

Semanas	Grupo I	Prop.	EE	Grupo II	Prop.	EE	Grupo III	Prop.	EE
Semana 0	7	100		7	100		7	100	
Semana 1	6	0,86	0,19	4	0,57	0,19	2	0,29	0,19
Semana 2	3	0,43	0,16	2	0,29	0,16	0	0	0,08
Semana 3	1	0,14	0,08	0	0	0,08	0	0	0,08
Semana 4	0	0	0,08	0	0	0,08	0	0	0,08
Semana 5	0	0	0,08	1	0,14	0,08	0	0	0,08
Semana 6	1	0,14	0,08	0	0	0,08	0	0	0,08
Semana 7	1	0,14	0,08	0	0	0,08	0	0	0,08

Prop. Proporción.; EE. Error estándar.

Estos resultados pueden estar dados porque las bacterias intestinales nativas desarrollan diferentes mecanismos para la inhibición de los microorganismos patógenos causantes de las diarreas, entre los cuales se encuentran la competencia por los sitios de colonización y nutrientes, la producción de compuestos tóxicos y la estimulación del sistema inmune. Estos procesos no son mutuamente exclusivos y

la inhibición puede comprender uno, varios, o todos estos mecanismos (Higgins *et al.*, 2008).

La diarrea de los terneros es un síndrome asociado con varias enfermedades, caracterizadas por cambios en la absorción de fluidos del intestino y desequilibrio electrolítico que conduce a la pérdida de fluidos corporales, deshidratación rápida y acidosis, lo que es fatal para los terneros. Entre los agentes infecciosos que provocan diarreas están: bacteriana (*Escherichia coli*, *Salmonella* spp y *Clostridium perfringens*), virus (rotavirus bovino, virus de la corona y virus de la diarrea viral bovina) y protozoos (Abeba *et al.*, 2018).

Signorini *et al.* (2012) obtuvieron resultados similares al presente trabajo. Estos autores definieron que el índice de diarrea está en correspondencia con la proporción de LAB:coliformes. Significa que cuando la población de coliformes es superior a las BAL se producen las diarreas. Por lo que si se suministra sistemáticamente durante esta etapa cultivos de *Lactobacillus*, incrementarán la población de estas bacterias en el TGI y disminuirán las diarreas. Otros autores como Thomas y Elliott (2013) también utilizaron probióticos en terneros y redujeron la población de *E. coli* O157:H7, lo cual demuestra la efectividad de estos biopreparados frente a esta bacteria causante de diarreas en los animales.

Zhang *et al.* (2018) refieren que cuando es baja la ingesta de leche aumenta la longitud del intestino de los terneros, el peso total del intestino delgado y el peso relativo de este, pero se reduce la altura de las microvellosidades del yeyuno y se incrementa el pH ruminal. El bajo consumo de leche también reduce la longitud de las microvellosidades en el saco ventral anterior del rumen, pero aumenta la longitud de estos en el saco ventral posterior.

#### **4.5. Análisis de los beneficios económicos que aporta la aplicación de dos dosis del biopreparado en terneros lactantes.**

En el presente trabajo se realizó la determinación del costo de producción, del biopreparado a escala de laboratorio. En la tabla 13 se presenta una actualización

de los recursos necesarios y el costo de producción para el PROBIOLACTIL® en condiciones de laboratorio.

Como se puede apreciar, los medios de cultivo empleados inciden en los bajos costos de los biopreparados. El costo para producir 1 L de PROBIOLACTIL® fue de 2,28 CUP y 0,63 CUC a escala de laboratorio. Estos valores son bajos, ya que los medios de cultivo para el biopreparado se formulan con componentes nacionales y de bajo costo de producción. En estos medios se sustituye la glucosa, la peptona, el extracto de levadura y el extracto de carne, que son productos más costosos y de menor disponibilidad por miel final de caña de azúcar y levadura procedente de la destilación de alcohol (Rondón, 2009; y Laurencio, 2010).

**Tabla 13.** Costo de producción del PROBIOLACTIL® a escala de laboratorio (1 L).

Descripción		UM	Precio MN	Precio USD	Cantidad	UM	Importe MN	Importe USD
<b>Componentes de los biopreparados</b>								
Miel final	1000	kg	60,00	-	0,15	kg	0,009	-
HELSc	1	L	0,03	0,05	1,050	L	0,031	0,0525
Fosfato de potasio	500	g	-	2,79	10	g	-	0,061
Citrato de amonio	500	g	-	2,79	25	g	-	0,153
Acetato de sodio	1	kg	-	1,27	0,025	kg	-	0,034
Sulfato de Manganeso	1	kg	-	0,66	0,0010	kg	-	0,0007
Sulfato de Magnesio	1	kg	-	0,62	0,00020	kg	-	0,00013
<b>TOTAL</b>							<b>0,04</b>	<b>0,30</b>
<b>Elementos del proceso</b>								
Energía	-	-	-	-	-	-	0,83	
Salario	-	-	-	-	-	-	9,52	
Depreciación	-	-	-	-	-	-	-	0,33
Seguridad social	-	-	-	-	-	-	1,02	
<b>Total (5 L)</b>	-	-	-	-	-	-	<b>11,41</b>	<b>0,63</b>
<b>Total (1 L)</b>							<b>2,28</b>	<b>0,13</b>

Unidad de medida, UM; Moneda Nacional, MN; Dólares estadounidenses, USD.

En la tabla14 se muestra un resumen de los aspectos que se tuvieron en cuenta para la determinación de los costos fijos, los costos variables, los ingresos y la ganancia total que se produjo en cada uno de los grupos de animales, mientras duró

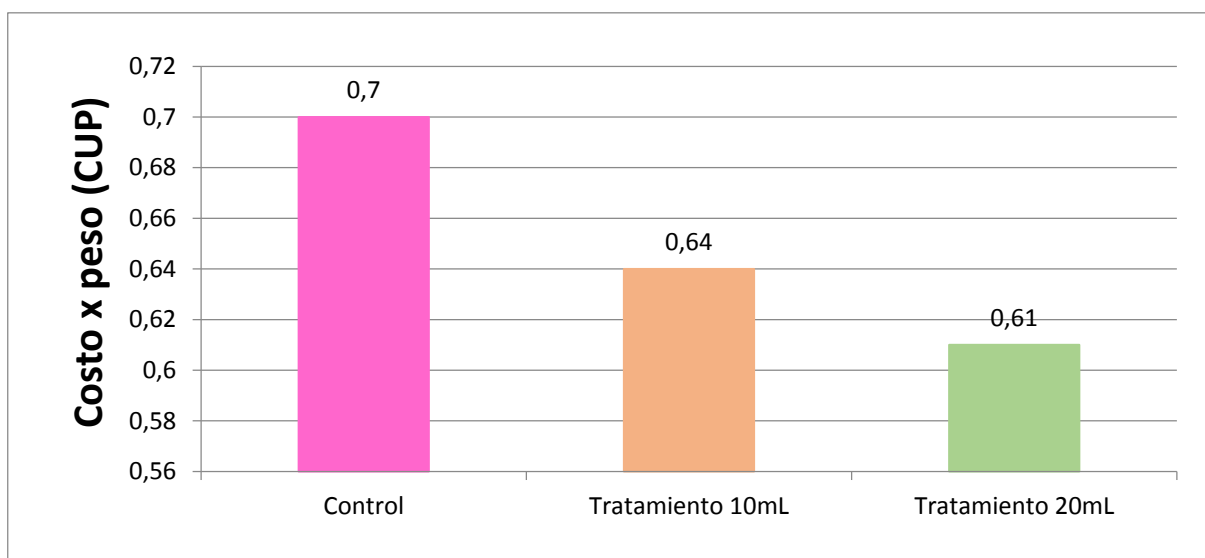
el experimento. Se puede apreciar que durante las ocho semanas, con la aplicación del probiótico, se obtuvieron mayores ingresos con estos tratamientos.

Estos resultados indican que sería factible emplear este producto en las recrias de terneros de la provincia y de todo el país. Se puede estimar que los costos variables están en correspondencia con la cantidad de antibióticos que se aplicó a los animales que presentaron diarreas en cada tratamiento. Se observa que el grupo control fue el más afectado, por lo que el costo por concepto de utilización de medicamentos fue superior a los restantes, donde se aplicó el biopreparado.

**Tabla 14.** Ganancia Total que se produjo durante el experimento.

Grupos		Control		PROBIOLACTIL® 10 mL		PROBIOLACTIL® 20 mL	
Costos Fijos							
Conceptos	UM	Cantidad	Precio CUP	Cantidad	Precio CUP	Cantidad	Precio CUP
Terneros ubicados	U	7	630	7	630	7	630
Consumo de alimentos	kg	137,2	1089,30	137,2	1089,30	137,2	1089,30
Probióticos	L	-	-	3,430	7,82	6,860	15,65
Vacunas	mL	80	69,60	80	69,60	80	69,60
Salarios	CUP	1	395	1	395	1	395
Total de costos fijos	CUP	-	2183,90	-	2191,72	-	2199,55
Costos Variables							
Antibióticos	mL	38	13,30	28	9,80	18	6,30
Total de costos variables	CUP	-	13,30	-	9,80	-	6,30
<b>Costos totales</b>	<b>CUP</b>	<b>-</b>	<b>2197,20</b>	<b>-</b>	<b>2201,52</b>	<b>-</b>	<b>2205,85</b>
Ingresos							
Peso vivo promedio	kg	52,43	445,65	58	493	59	501,50
Peso vivo total	kg	367	3119,5	406	3451	423	3595,50
Ganancia de peso	kg	56	476	96	816	122	1037
Ingresos totales	CUP	-	3119,5	-	3451	-	3595,50
<b>Ganancias (Ingresos-costos)</b>	<b>CUP</b>	<b>-</b>	<b>922,30</b>	<b>-</b>	<b>1249,48</b>	<b>-</b>	<b>1389,65</b>

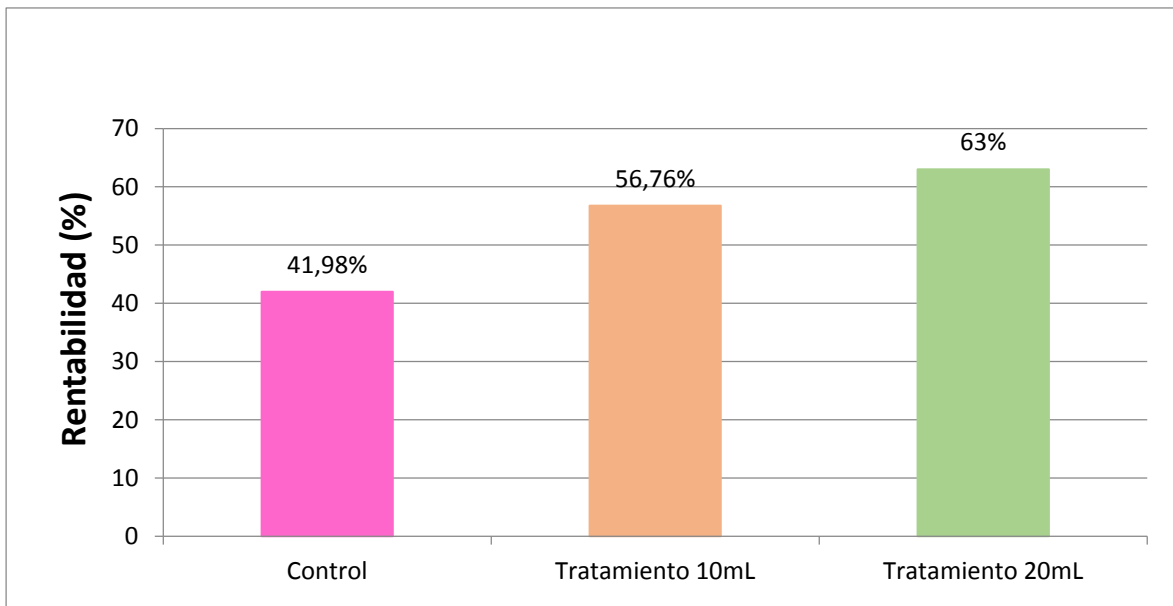
En la figura 16 se observan los resultados del cálculo del costo por peso en cada tratamiento. Se comprobó que los mejores resultados se corresponden con los obtenidos con el biopreparado PROBIOLACTIL® en dosis de 20 mL, ya que se necesita gastar 0,61 CUP para obtener 1 CUP. Estos resultados, aunque preliminares, demuestran que podrá producirse un mejor comportamiento de estos indicadores económicos en la etapa final de la crianza.



**Figura 16.** Costo por peso de cada uno de los tratamientos empleados en el experimento.

En la figura 17 se hace referencia a la rentabilidad del proceso, donde se observa que en el grupo control este indicador alcanzó solamente el valor de 41,98%, mientras que en los tratamientos, donde se suministraron los biopreparados fue superior.





**Figura 17.** Rentabilidad de cada uno de los tratamientos empleados en el experimento.

Estos resultados tienen gran importancia desde el punto de vista económico y social, ya que se produce un aumento de la producción, que propicia mayor fuente de ingresos para la entidad bovina.

*Conclusiones.*

## 5. CONCLUSIONES

1. La caracterización *in vitro* de la actividad metabólica de la cepa probiótica *Lactobacillus salivarius* C-65 demostró que esta bacteria presenta una alta actividad enzimática, que contribuye a mejorar la digestibilidad de los alimentos y a la producción de ácidos orgánicos.
2. *Lactobacillus salivarius* C65 mostró actividad carboximetilcelulósica, lo cual indica que es una cepa promisoría en la degradación de la celulosa.
3. La cepa *L. salivarius* C-65 demostró *in vitro* una alta capacidad de crecimiento de hasta más de  $15 \text{ LN UFC.mL}^{-1}$  y actividad fermentativa en el lactoreemplazante para terneros RALTEC Milk 17-1.
4. La dosis de 20 mL del biopreparado PROBIOLACTIL® por animal al día, provocó la mejora de los indicadores bioproductivos y la salud de los terneros lactantes, al manifestarse el aumento del incremento de peso y la disminución de la incidencia de diarreas.
5. Desde el punto de vista económico, la aplicación de dos dosis del biopreparado PROBIOLACTIL® en terneros lactantes incrementa las ganancias y mejora la rentabilidad del proceso, con resultados más promisorios en el tratamiento de 20 mL por animal al día.

# *Recomendaciones*

## **RECOMENDACIONES**

1. Evaluar otras dosis del biopreparado en estos animales.
2. Determinar el efecto de PROBIOLACTIL en un mayor número de animales.
3. Evaluar el efecto de este biopreparado como aditivo en ensilajes, dada su posible actividad celulolítica.

# *Referencias bibliográficas.*

#### 4. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abebaw, R., Mitku, F.; Fentie, T. 2018. A Review On The Importance Of Calf Diarrhea In Dairy Production System: Ethiopian Perspective. *Journal of American Science* 14(10): 71-86.
- Alonso, A.C., Ybalmea, R., Guzmán, D. 2016. Crecimiento de hembras Siboney de Cuba hasta 90 días de edad alimentadas con raciones integrales que contenían diferentes niveles de inclusión de reemplazante lechero seco. Disponible en: <http://rc.upr.edu.cu/bitstream/DICT/2677/1/Publicaci%C3%B3n%20Alonso%20et%20al%20Revista%20UNICA.pdf>. Fecha de consulta: 4 de junio de 2019.
- Andrial, P. 2004. Sistema de explotación para la producción de carne y leche vacuna. Trabajo de Diploma de Culminación de Estudios. Unidad Docente Nazareno. Universidad Agraria de la Habana. Cuba.
- Ángel, R.; Dalloul, R.A.; Doerr, J. 2005. Metabolism and nutrition: Performance of broiler chickens fed diets supplemented with a direct-fed microbial. *Poult. Sci.* 8 (4): 12-31.
- Anon. 2012. Fisiología digestiva III. Fisiología digestiva de los rumiantes. Disponible en: <https://es.slideshare.net/leosarapura/fisiologa-digestiva-iii-parte-1>. Fecha de consulta: 12 de junio de 2019.
- Anon. 2012. Practicing eating!. Ruminations. Disponible en: <https://theheritagefarm.me/tag/microbes/>. Fecha de consulta: 2 de mayo del 2019.
- Ayala, M.A., Hernandez, D., Hernandez, Pinto-Ruiz, R., Torres N. 2018. Efecto prebiótico de dos fuentes de inulina en el crecimiento in vitro de *Lactobacillus salivarius* y *Enterococcus faecium*. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias* 9(2):346. DOI: 10.22319/rmcp.v9i2.4488.
- Bengmark, S.- 1998. Ecological control of the gastrointestinal tract. The role of probiotic biota. *Gut*, 42: 2-7.
- Bennett, R.W. y Lancette, G. A.2007. Food and Drug Administration (FDA). Bacteriological Analytical Manual. On-line <http://www.fda.gov/oc/sapnish/>. Consultada en Enero 2019.
- Blanch, A. 2015. Aplicación de probióticos, prebióticos y simbióticos en rumiantes. *Revista: NutriNews* Junio 2015. 1p.
- Blanco Ochoa, M.G. 2006. Alimentación en becerras. Disponible en: <http://www.fmvz.unam.mx/bovinotecnia/BtRgZooG001.pdf>. En línea: Mayo 2006. Consultado: Abril 2019.
- Blum JW, Hammon H. 2000. Colostrum effects on the gastrointestinal tract, and on nutritional, endocrine and metabolic parameters in neonatal calves. *Livestock Production Science* 66: 151-159

- Brizuela Herrada, María Antonia.; Pérez, Yovanka 1998. Mecanismo de acción de los probióticos. ACPA.2, Vol.17. p: 53-55.
- Calzadilla, D.; Castro, A.; Soto, E.; Andrial, P. 1999. Ganadería tropical. Editorial Félix Varela. La Habana. Cuba.
- Carthy, J. D. 1969. Animal Behaviour. Aidus Books Ltd. London castellano on line <http://www.terra.es/personal/jesusconde> Acceso: 25 de noviembre de 2007.
- Corzo, G. & Gilliland, S.E. 1999. Bile salt hydrolase activity of three strains of *Lactobacillus acidophilus*. J. Dairy Sci. 82:472-480
- Corzo, N.; Alonso, J. L.; Azpiroz, F.; Calvo, M. A.; Cirici, M.; Leis, R.; Lombó, F.; Mateos-Aparicio, I.; Plou, F. J.; Ruas-Madiedo, P.; Rúperez, P.; Redondo-Cuenca, A.; Sanz, M. L.; Clemente, A. 2015. Prebióticos; concepto, propiedades y efectos beneficiosos. Nutrición Hospitalaria, 31(1): 99-118
- De Mann, J.C., Rogosa, M. & Sharpe, M.E. 1960. A medium for the cultivation of lactobacilli. J. Bacteriol. 23:130-135
- Del Valle, A. 2017. Obtención de un biopreparado simbiótico, a partir de la mezcla de pulpa de *Agave fourcroydes* Lem. y PROBIOLACTIL®, para su aplicación en terneros. Trabajo de Diploma en opción al título de Ingeniero Agrónomo. Universidad de Matanzas “Camilo Cienfuegos”.
- Delgado, R.; Rodríguez, H.C.; Barreto, G.; Vázquez, R. 2014. Efecto probiótico de *Saccharomyces cerevisiae* en parámetros hemáticos y metabólicos de terneros en pastoreo. Rev. prod. anim. 26 (3): p 1.
- Díaz, A; Laurencio, M.S; Pérez, M. 2006. Factores que influyen en el desarrollo ruminal de terneros de 0 a 6 meses de edad. Universidad de Matanzas Camilo Cienfuegos. Facultad de Agronomía. Autopista a Varadero km 3 ½ Matanzas, C.P. 44740, Cuba. 7p.
- Duncan, B. 1955. Multiple ranges and multiple F. Test Biometrics 11:1
- Elera, R. 2003. Efecto de *Lactobacillus bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus* en la prevención de enterocolitis en terneros. (Monografía). 15p.
- Estévez, J. A.; Pedraza, R.; Ramos, L.; Julián, M.C. Bagamés as Feeding Alternative for Nursing and Weaned Calves. Rev. prod. anim. 27 (2): 2015.Express p: 44- 54.
- FAO/OMS. 2001. Informe de la Consulta de Expertos FAO/OMS sobre Evaluación de las propiedades saludables y nutricionales de los probióticos en los alimentos, incluida la leche en polvo con bacterias vivas del ácido láctico. Córdoba, Argentina 1-4 de octubre.
- Faria, D.E., Torres, K.A.A., Faria, D.E., Campos, D.M.B. & Rosa, P.S. 2006. Probiotics for broiler chickens in Brazil: systematic review and meta-analysis. Rev. Bras. Ciencia Avícola 8(2) Campinas Apr/June



- Fernández, M. 2003. Utilización de reemplazantes lácteos en la cría de terneros. Rev. Mundo Ganadero. 41 (1): 28-30.
- Fil, L. 1992. " New Technologies for fermented milks". Bul int Dairy Fed, 277, 40p.
- Flores, O. 2015. Efecto del PROBIOLACTIL® en indicadores productivos y de salud en terneros lactantes. Trabajo Científico Técnico Salud y producción bovina. Universidad Agraria de la Habana. Cuba.
- Font, H., Noda, Aida., Torres, Verena., Herrera, Magaly., Lizazo, D., Sarduy, Lucía. & Rodríguez, Lourdes. 2007. Paquete estadístico ComparPro versión 1. Instituto de Ciencia Animal, Dpto. Biomatemática.
- Frediansyah, A; Kurniadi, M. 2017. Michaelis kinetic analysis of extracellular cellulase and amylase excreted by *Lactobacillus plantarum* during cassava fermentation. AIP Conference Proceedings 1788, 030111 (2017); <https://doi.org/10.1063/1.4968364>. Published Online: 03 January 2017.
- Fuller, R. 1989. Probiotics in man and animal. J. Appl. Bacteriol. 66 (5):365-378
- Fuller, R; Gibsen, G. 1997. Modification of intestinal microflora using
- García Curbelo, Y., Y. García, A. López y R. Boucourt. 2005. Probióticos: una alternativa para mejorar el comportamiento animal. Instituto de Ciencia Animal. Revista Cubana de Ciencia Agrícola 39(2): 129-140
- Griggs, J.P. & Jacob, J.P. 2005. Probiotics in poultry. J. Appl. Poult. Res. 14:750-756
- Gutiérrez, I., Moreno, N., Montoya, D. 2015. Mecanismos y regulación de la hidrólisis enzimática de celulosa en hongos filamentosos: casos clásicos y nuevos modelos. Revista Iberoamericana de Micología 32(1): 1-62.
- Harrigan, W.F. & McCance, M. 1968. Métodos de laboratorio de Microbiología. Editorial Academia. León, España
- Herdian, H., Istiqomaha, L., Damayantia, E., Suryania, A.E, Anggraenia, A.S., Rosyadab, N., Susilowatib, A. 2018. Isolation of Cellulolytic Lactic-Acid Bacteria from Mentok (*Anas moschata*) Gastro-Intestinal Tract. Science Journal 41(3): 200-206. DOI: <https://doi.org/10.5398/tasj.2018.41.3.200>.
- Hernández, Y. 2012. Elaboración del SUBTILPROBIO en terneros lactantes de la Recría "Los Quinientos". Trabajo de Diploma de Culminación de Estudios SUM "Jesús Herrera" Pedro Betancourt. Universidad de Matanzas "Camilo Cienfuegos".
- Higgins, S.E.; Higgins, J.P.; Wolfenden, A.D.; Henderson, S.N.; Torres, A; Téllez, G.; Hargis, B. 2008. Evaluation of a Lactobacillus based probiotic culture for the reduction of Salmonella enteritidis in neonatal broiler chicks. Poult.Sci. 87 (2): 27-33.

- Hovenjürgen, M. 2017. Cría de terneros. Principios básicos y recomendaciones para el éxito en la cría. Bewital agri. 24p.
- Hyttel P. 2010. Development of the gastropulmonary system. En: Hyttel P, Sinowatz F, Vejlsted M, eds. Essentials of domestic animal embryology. Toronto: Saunders Elsevier. p. 216-251. incidencias de diarreas en terneros de razas lecheras. Rev. Información
- Iraira, S; Canto, F. 2014. Bienestar animal en crianza de terneros de lechería. Chile. Imprenta América. 5p.
- Jurado-Gómez, H., Jarrín-Jarrín V. 2015. Cinética de crecimiento de *Lactobacillus lactis* y determinación del efecto probiótico en cepas patógenas. Revista Biosalud 14 (2): 49-62. DOI: 10.17151/biosa.2015.14.2.5.
- Jurado-Gómez, H., Ramírez, C., Aguirre, D. 2013. Cinética de fermentación de *Lactobacillus plantarum* en un medio de cultivo enriquecido como potencial probiótico. Veterinaria y Zootecnia 7(2):37-53.
- Kandler, O.; Weiss, N. 1986. Genus *Lactobacillus*. En Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. 2 (1): 1208-1234.
- Kolb, E. 1976. Fisiología Veterinaria 1. Editorial Acribia, Zaragoza. p. 472.
- Lanuza, F. 2016. Crianza de terneros y reemplazos de lechería. Instituto de Investigaciones Agropecuarias – Centro Regional de Investigación Remehue. Boletín Inia N°148. 5p.
- Laurencio, M. 2010. Obtención y caracterización de una mezcla de exclusión competitiva de microorganismos sécales de pollos de ceba y evaluación in vivo de su efecto probiótico. Tesis en opción de MSc. Instituto de Ciencia Animal.
- Leva, P.E. García, M.S. Toffoli G. Rodríguez, A. G. Rey, F. 2013. Bienestar en terneros lechales en dos sistemas de crianza. Estudio de caso en la cuenca lechera santafesina. FAVE. Secc. Cienc. agrar. vol.12 no.2 Santa Fe dic. 1p
- Lilly, D.M. & Stillwell, R.H. 1965. Probiotics: Growth promoting factors produced by microorganisms. Sci. 147:747-748
- Lyford, S. J. JR. 1993. Crecimiento y desarrollo de aparato digestivo de los rumiantes. En: El Rumiante. Fisiología digestiva y nutrición. C. D. Church (ed). Editorial Acribia, S. A. Zaragoza. España. p 47 – 68.
- Lyons, P. 1997. Opinión los hombres de negocio. Avicultura profesional. 15 (7): 22.
- Malik, R.; Bandla, S. 2010. Effect of source and dose of probiotics and exogenous fibrolytic enzymes (EFE) on intake, feed efficiency, and growth of male buffalo (*Bubalus bubalis*) calves. Trop Anim Health Prod. 42 (6): 63-90.

- Marín J., 1992. Sustitutos de la leche en la alimentación de terneras de reemplazo Holstein; 3(23): 17.
- Marín, A; García, A; Gutiérrez, M; González, M; Ochieng, O. 2016. Efecto probiótico del BIOPRANAL sobre los indicadores bioproductivos y de salud en terneros. Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Central Marta Abreu de Las Villas (UCLV), Cuba. 2p.
- Milián, G. 2009. Obtención de cultivos de *Bacillus* spp. y sus endosporas. Evaluación de su actividad probiótica en pollos (*Gallusgallusdomesticus*). Tesis presentada en opción al Grado Científico de Doctor en Ciencias Veterinarias. Instituto de Ciencia Animal. La Habana. Cuba
- Moran, E.T. 2002. Comparative nutrition of fowls and swine. The gastrointestinal system. Office for educational Practice. University of Guelph. Guelph, Ontario, Canadá. Pág. 253.
- NC ISO 4832. 2002. Microbiología de los alimentos de consumo humano y animal. Determinación de coliformes. Método de la placa vertida
- NC ISO 6579. 2004. Microbiología de los alimentos de consumo humano y animal. Guía General para la determinación de *Salmonella*
- NC ISO 6887-1. 2002. Microbiología de los alimentos de consumo humano y animal. Preparación de la muestra de ensayo, la suspensión inicial y las diluciones seriadas decimales. Parte 1
- NC ISO 6888. 2002. Microbiología de los alimentos de consumo humano y animal. Determinación y conteo de *Staphylococcus aureus*. Uso del medio de Baird Parker
- NC ISO 7932. 1993. Determinación y conteo de *Bacillus cereus*. Guía general
- NC ISO 7954. 2002. Microbiología de los alimentos de consumo humano y animal. Guía General para la enumeración de mohos y levaduras. Método de la placa vertida
- Orskov, E. R.; m. Ryle. 1998. Energy nutrotrion in ruminants. Chalcombe publications, Painshall. Church Lane, Welton, Lincoln, LN2 3 LT, UK.
- Pandey, R.; Suresh, R. N.; Babu, V. 2015. Probiotics, prebiotics and synbiotics. Association of Food Scientists y Technologists. 10 (7): 13-19.
- Parker, R. B .1974. Probiotics, the other half of the antibiotics story. Rev. Anim. Nutr. 29 (2): 4-8.
- Patterson, J.A. & Burkholder, K.M. 2003. Application of prebiotics and probiotics in poultry production. Poult. Sci. 82:627-631
- Pérez, R. La ganadería cubana en transición. Disponible en: <http://www.fao.org/docrep/x1700t/x1700t04.htm>. Fecha de consulta: octubre de 2018

- Pino, A.; Dihigo, L. E. 2007. Ensayo sobre el efecto de los probióticos en la fisiología animal. Instituto de Ciencia Animal. La Habana. Disponible en: Monografías.com. [Consultado: febrero 2017].probiotics and probiotics 222; 1 p 19-20
- Rada, V. 1997. Detection of Bifidobacterium species by enzymatic methods and antimicrobial susceptibility testing. Biotech. Tech. 11 (12):909-912
- Realpe, H. 2010. Anatomía y fisiología del sistema digestivo de los rumiantes. 1p
- Riboulet-Bisson, E.; Sturme, M. H. J.; Jeffery, I.B.; O'Donnell, M.M.; Neville, B. A.; Forde, B. M.; Claesson, M. J.; Harris, H.; Gardiner, G. E.; Casey, P.G.; Lawlor, P.G.; O'Toole, P.W.; Ross, R.P. 2012. Effect of Lactobacillus salivarius bacteriocin Abp118 on the mouse and pig intestinal microbiota. 7 (2): 31-113.
- Rondón, A.J. 2009. Obtención de biopreparados a partir de lactobacilos autóctonos del tracto digestivo de pollos y evaluación de su efecto probiótico en estos animales. Tesis presentada en opción al grado científico de Doctor en Ciencias Veterinarias. Instituto de Ciencia Animal. La Habana. Cuba. 17p.
- Rondón, A.J.; del Valle, A.; Martínez, M.; Valdivia, A. 2018. Situación actual de la crianza de terneros y empleo de probióticos, prebióticos y simbióticos en estos animales. Universidad de Matanzas, Vía Blanca Km.3, Matanzas, Cuba. 2p. (monografía).
- Rondón, A.J.; Milián, G.; Bocourt, R.; Ranilla, M.J.; Riaño, J.; Samaniego, L.M.; Rodríguez, Z.; Laurencio, M.; Pérez, M.; Rodríguez, M. 2012. Identification and antimicrobial activity of Lactobacillus strains of poultry origin. Rev. Ciencias Agrícolas 46 (4): 403-409.
- Rondón, A.J.; Ojito, Y.; Arteaga, F.; Laurencio, M.; Milián, G.; Pérez, Y. 2013. Probiotic effect of Lactobacillus salivarius C-65 on productive and health indicators of lactating piglets. Cuban J. Agric. Sci. 47:401.
- Rondón, A.J.; Laurencio, M. 2008. Utilización de las mezclas de Exclusión Competitiva en la avicultura moderna. Rev. Cienc. Agríc. 42 (1): 3-11.
- Sánchez, C. E.; Rosales M.F., Bustamante, A.C. 2015. Modelo de hidrólisis de lactosa para fermentación láctica en una base probiótica y simbiótica. Revista Tecnológica ESPOL – RTE 28(3): 53-68.
- Sang, J.; Wook, H.; Hwan, K.; Jang, A.; Geun, S.; Hwa, M.; Hun, D.; Kyung, D.; Bae, G.; Jun, J. 2011. Genome Sequence of Lactobacillus salivarius NIAS840, Isolated from Chicken Intestine. Journal of bacteriology. 193(19):5551. Sitar en: <http://jb.asm.org/> on March 9, 2012.
- Saro, C; Mateos, I; Ranilla, M.J; Dolores, M. 2017. Uso de probióticos para mejorar la salud digestiva de los rumiantes. Departamento de Producción Animal, Universidad de León. 1p.

- Savón, L. 2005. Alimentación no convencional de especies monogástricas: utilización de alimentos altos en fibras. VIII Encuentro de Nutrición y Producción de Animales Monogástricos. UNELLEZ, GUANARE, Venezuela. p. 30.
- Sayan, H.; Assavacheep, P.; Angkanaporn, K.; Assavacheep, A. 2018. Effect of *Lactobacillus salivarius* on growth performance, diarrhea incidence, fecal bacterial population and intestinal morphology of suckling pigs challenged with F4+ enterotoxigenic *Escherichia coli*. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences* 31(8): 1308-1314. DOI: <https://doi.org/10.5713/ajas.17.0746>.
- Schneider, R., Rosmini, M., Eherman, M. & Vogel, R. 2000. Aplicación de técnicas de RAPD y análisis del 16S rDNA para la identificación de bacterias lácticas componentes de la microbiota aislada de terneros criados en condiciones artificiales. VI Congreso Latinoamericano de Microbiología de los alimentos. Buenos Aires. Argentina. p.75
- Schrezenmeir, J.; De Vrese, M. 2004. Probiotics, prebiotics and symbiotics-approaching a definition. *Am. J. Clin. Nutr.* 73:361S.
- Signorini, M.; Soto, L.; Zbrun, M.; Sequeira, G.; Rosmini, M.; Frizzo, L. 2012. Impact of probiotic administration on the health and fecal microbiota of young calves: a meta-analysis of randomized controlled trials of lactic acid bacteria. *Res Vet Sci.* 93 (1): 250-8.
- Silva, Y. 2013. Efecto probiótico de un biopreparado de *Bacillus subtilis* C-31 en terneros lactantes. Trabajo de Diploma de Culminación de Estudios Centro de Estudios Biotecnológicos. Universidad de Matanzas "Camilo Cienfuegos". Cuba. p11.
- Soca, M.; Ojeda, F.; Canchila, E.R. 2011. Efecto del probiótico Sorbial® en el comportamiento productivo y la salud animal de terneros en pastoreo. *Pastos y Forrajes* 34 (4). Disponible en:[http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0864-03942011000400006](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-03942011000400006). [Consultado: enero 2017].
- Socorro, M. 2016. Efecto probiótico del PROBIOLACTIL®, SUBTILPROBIO® y su mezcla, en indicadores productivos y de salud en cerdos lactantes y preceba. Tesis presentada en opción al Título Académico de Master en Ciencias Agrícolas. Universidad de Matanzas "Camilo Cienfuegos". 18p
- Socorro, M. 2017. Efecto probiótico del PROBIOLACTIL®, SUBTILPROBIO® y su mezcla, en indicadores productivos y de salud en cerdos lactantes y preceba. Tesis presentada en opción al Título Académico de Master en Ciencias Agrícolas. Universidad de Matanzas "Camilo Cienfuegos". 21p.
- Stavric, S. & Kornegay, E.T. 1995. Microbial probiotics for pigs and poultry. En: *Biotechnology in Animal Feeds and Animal Feeding*. R. J. Wallace, and A. Chesson, ed. VCH, New York. p. 205-231

- Tahara, T; Kavetani, K 1996 Insolation partial colonization and made of action of acidocin js 229 a bacteriocin produced by lactobacillus jcm 1229. *LAppl Bacterial* 81: 16. 669- 677.
- TannocG.W. 2004. A special fondness for lactobacilli. *Appl. Environ. Microbiol.* 70(7): P 3189–3194.
- Tartar, G; Vargas, I. M 1997. La biotecnología en la ganadería. *RV. Normando Colombiano* 25, 7-9.
- Uitz, J.A; Jaimes, J. 2011. Efecto de la adición de prebióticos y probióticos en el comportamiento de terneros lactantes holstein. Universidad Autónoma Chapingo - Unidad Regional Universitaria de Zonas Áridas. México. 52p.
- Uyene, Y., Shigemori, S., Shimosato, T. 2015. Effect of Probiotics/Prebiotics on cattle health and productivity. *Microbes Environ* 30: 126–132.
- Vanbelle, M.; Teller, E.; Focant, M. 1990. Probiotics in animal nutrition. *Arch. Anim. Nutr.* 4(7): 20-31.
- Vega, J.A.; Jiménez, Y.; Angarica, L. y Trujillo, C.M. 2001. La economía en el sector agropecuario. Universidad Agraria de La Habana.
- Vignolo, G; Fadders; Dekainz. MN; de Ruiz Holgado A.A. ;Oliver G. 1996 Control of listeria monocytogenes in ground beef by lactocin 705, a bacteriocin produced by lactobacillus casei CRL 705.29: 2-3, p 399-402.
- Vilenchik. 1989. Fundamentos biológicos del envejecimiento y la longevidad. Editorial M. Moscú p 259-273.
- Wattiaux, M. A. 2008. Instituto Babcock. Crianza de terneras del nacimiento al destete. Importancia de alimentar con calostro York: WW Norton & Company.
- Yáñez, D.R., Abecia, L., Newbold, C.J. 2015 Manipulating rumen microbiome and fermentation through interventions during early life: a review. *Front. Microbiol.* 6: 1133.
- Ybalmea, R. 2015. Alimentación y manejo del ternero, objeto de investigación en el Instituto de Ciencia Animal. *Revista Cubana de Ciencia Agrícola* 49 (2):141-152.
- Zhang, T., Wu, Z., Hou, Q., Wang, Y., Hu, Z., Lin, X., Wang, Z. 2018. Gastrointestinal Tract Development in Unweaned Calves Feeding Different Amounts of Milk and Different Starters. *Advances in Bios-cience and Biotechnology* 9: 289-310.

*Anexos.*

## 8. ANEXOS

### Anexo 1



**Figura 19.** Terneros lactantes utilizados en el experimento.



## Anexo 2



**Figura 20.** Medición del perímetro torácico para hallar el peso vivo del animal.