

## Obtención de un biopreparado simbiótico (mezcla de pulpa de *Agave fourcroydes* Lem. y PROBIOLACTIL®) para su aplicación en terneros

Ana J. Rondón<sup>1</sup>, Arianne del Valle<sup>2</sup>, Grethel Milián<sup>3</sup>, Fátima G. Arteaga<sup>4</sup>, Marlén Rodríguez<sup>5</sup>, Aymara Valdivia<sup>6</sup> & Marlene Martínez<sup>7</sup>

<sup>1</sup>ORCID <https://orcid.org/0000-0003-3019-1971>, Universidad de Matanzas, Centro de Estudios Biotecnológicos, Cuba, <sup>2</sup>Universidad de Matanzas, Centro de Estudios Biotecnológicos, Cuba, <sup>3</sup>Universidad de Matanzas, Centro de Estudios Biotecnológicos, Cuba, <sup>4</sup>Laboratorio de Biología Molecular. Escuela Superior Politécnica Agropecuaria, Manabí, Ecuador, <sup>5</sup>Universidad de Matanzas, Centro de Estudios Biotecnológicos, Cuba, <sup>6</sup>Universidad de Matanzas, Centro de Estudios Biotecnológicos, Cuba, <sup>7</sup>Universidad de Matanzas, Centro de Estudios Biotecnológicos, Cuba.

DOI (pre-print): 10.13140/RG.2.2.27449.62561

Citación: Rondón, A., del Valle, A., Milián, G., Arteaga, F., Rodríguez, M., Valdivia, A., & Martínez, M. (2019). Obtención de un biopreparado simbiótico (mezcla de pulpa de *Agave fourcroydes* Lem. y PROBIOLACTIL®) para su aplicación en terneros. *Agrisost*, 25(2), 1-9. Recuperado a partir de <https://revistas.reduc.edu.cu/index.php/agrisost/article/view/e2737>

Recibido: 2 abril 2019

Aceptado: 11 mayo 2019

Publicado: 15 mayo 2019

Financiamiento: no se declara.

Conflictos de interés: no se declaran conflictos de interés.

Correo electrónico: [ana.rondon@umcc.cu](mailto:ana.rondon@umcc.cu)

### Resumen

**Contexto:** En la crianza artificial de terneros, los animales son susceptibles a desórdenes gástricos, muchos de los cuales tienen su origen en incorrectas prácticas nutricionales.

**Objetivo:** El presente trabajo tuvo como objetivo obtener un biopreparado simbiótico a partir de la mezcla de pulpa de henequén (*Agave fourcroydes* Lem.) y PROBIOLACTIL® para su aplicación en terneros.

**Métodos:** En el diseño y optimización del biopreparado se empleó el método de superficie respuesta con un diseño experimental compuesto central rotativo 2<sup>2</sup> y dos repeticiones en el centro del plan. Se utilizó pulpa de henequén con la adición de miel final e hidrolizado de levaduras como fuente de azúcares y nitrógeno respectivamente y PROBIOLACTIL® para la suplementación de *Lactobacillus salivarius*. Se realizó un experimento durante 28 días, con diseño completamente aleatorizado, para evaluar el efecto de este aditivo en indicadores productivos y de salud de terneros de la raza Mambí de Cuba durante la etapa de destete en recría.

**Resultados:** Como resultado se obtuvieron los valores óptimos para los componentes del biopreparado que aumentan la población de *Lactobacillus*. Se demostró que la aplicación del aditivo obtenido mejoró los indicadores de peso vivo, ganancia media diaria e incremento de peso a partir de los 21 días e incidió en la salud, al disminuir la ocurrencia de diarreas.

**Conclusiones:** El biopreparado, diseñado a partir de la aplicación de un cultivo probiótico a residuos agroindustriales, enriquecido con componentes nacionales y de alta disponibilidad, constituye un biopreparado simbiótico que puede emplearse como aditivo nutricional en terneros, durante la etapa de destete.

**Palabras clave:** probióticos, aditivos zootécnicos, *Lactobacillus salivarius*.

## Production of a Symbiotic Biopreparation (Mixture of *Agave fourcroydes* Lem. Pulp and PROBIOLACTIL®) for Use in Calves

### Abstract

**Context:** In the artificial breeding of calves, the animals are susceptible to gastric disorders, many of which have their origin in incorrect nutritional practices.

**Objective:** The objective of this work was to obtain a symbiotic biopreparation from the mixture of henequen pulp (*Agave fourcroydes* Lem.) and PROBIOLACTIL®, for its application in calves.

**Methods:** In the design and optimization of the biopreparation, the response surface method was used with a rotating central composite experimental design  $2^2$  and two repetitions in the center of the plan. Henequen pulp was used with the addition of final honey and hydrolyzed yeast as a source of sugars and nitrogen, respectively and PROBIOLACTIL® for the supplementation of *Lactobacillus salivarius*. An experiment carried out for 28 days, with a completely randomized design, to evaluate the effect of this additive on productive and health indicators of calves of the Mambí of Cuba breed during the weaning stage in rearing.

**Results:** As a result, optimal values obtained for the components of the biopreparation that increase the population of *Lactobacillus*. It demonstrated that the application of the obtained additive improved the indicators of live weight, average daily gain and weight gain after 21 days and affected health, by decreasing the occurrence of diarrhea.

**Conclusions:** The biopreparation, designed from the application of a probiotic crop to agroindustrial waste, enriched with national components and high availability, constitutes a symbiotic biopreparation that can be used as a nutritional additive in calves, during the weaning stage.

**Key words:** probiotics, zootechnical additives, *Lactobacillus salivarius*.

## 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; Malacari, 2016). Durante años se utilizaron los antibióticos para revertir estos problemas; sin embargo, a nivel mundial se exploran diversas alternativas para sustituir a estos antimicrobianos, 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 & Gilliland, 1999; Uyeno Shigemori & Shimosato, 2015).

Estos aditivos pueden elaborarse a partir de microorganismos o sustancias que contribuyen a estabilizar, mantener, reproducir y potenciar el equilibrio favorable de la ecología microbiana intestinal, unido al buen funcionamiento del sistema inmune (Alzahal et al., 2014; MacPherson et al., 2014; Pandey, Suresh & Babu, 2015).

Los probióticos se definen como microorganismos vivos que ejercen una acción benéfica sobre la salud del huésped al ser administrados en cantidades adecuadas (FAO/OMS, 2001; Castañeda, 2018). En cambio, los prebióticos son ingredientes alimenticios no digeribles que afectan de manera positiva al animal, ya que estimulan de forma selectiva el crecimiento y la actividad metabólica de un número limitado de bacterias colónicas (Olagnero et al., 2007). Los simbióticos combinan en sus formulaciones principios prebióticos y probióticos que actúan sinérgicamente (Abreu, 2014).

Koteswara Reddy et al. (2013) refieren que en el mundo existe la tendencia de utilizar residuos de cosechas agrícolas como alimento animal. Estos se enriquecen con tratamientos biológicos como la fermentación microbiana, la cual contribuye a mejorar el valor nutricional de los desechos. En la provincia de Matanzas se producen anualmente miles

de toneladas de residuos de henequén (*Agave fourcroydes* Lem.), los cuales se utilizan en la fertilización de los suelos agrícolas y en la alimentación animal. La pulpa es un subproducto obtenido de la extracción de las fibras presentes en la planta. Esta tiene bajo contenido de materia seca, por lo que requiere de la incorporación de otros compuestos para perfeccionar su utilización. Algunos trabajos refieren que la pulpa de henequén tiene bajo valor nutricional; sin embargo, presenta alta digestibilidad y es rica en inulina, la cual se considera una de las sustancias prebióticas más importantes (García et al., 2015).

En la Universidad de Matanzas se ejecutaron diferentes proyectos de investigación para el desarrollo de productos probióticos, entre ellos está PROBIOLACTIL®, biopreparado elaborado a partir del cultivo de *Lactobacillus salivarius*, el cual se evaluó en aves y cerdos con excelentes resultados en el incremento de los indicadores productivos y de salud. De ahí que el objetivo del presente trabajo fue obtener un biopreparado simbiótico a partir de la mezcla de pulpa de henequén (*Agave fourcroydes* Lem.) y PROBIOLACTIL®, para su aplicación en terneros.

## Materiales y Métodos

Para el diseño del biopreparado probiótico se utilizó por cada kg de pulpa de henequén (procedente de la empresa henequenera de Matanzas Eladio Hernández) se añadió miel final de caña (como fuente de carbono) e hidrolizado de levaduras *Saccharomyces cerevisiae* (como fuente de nitrógeno total) y como inóculo el biopreparado PROBIOLACTIL®. El pH fue de 6,5 y la temperatura de incubación 30 °C.

En la optimización de la composición del biopreparado se empleó el método de superficie respuesta (Box et al., 1978) con un diseño experimental compuesto central rotativo  $2^2$  y dos repeticiones en el centro del plan. Las variables independientes fueron azúcares reductores totales (ART- $X_1$ ) y nitrógeno total (NT- $X_2$ ) aportados por la miel final de caña de azúcar y el Hidrolizado

enzimático de levaduras, respectivamente. La otra variable ( $X_3$ ) fue el inóculo bacteriano (PROBIOLACTIL®) y la variable respuesta (Y) fue el conteo de las Unidades formadoras de colonias por gramo (UFC.g<sup>-1</sup>).

A partir de la definición de los niveles de las variables independientes se empleó el programa Statgraphics Plus versión 5.1 (2002) para crear el diseño de la matriz codificada, que muestra las combinaciones que debían ejecutarse. Para los ART (10, 15, 20 g), NT (1, 2, 3 g) e inóculo (5, 10, 15 mL) se emplearon los niveles mínimos, medios y máximos. El programa también desarrolla un análisis de regresión múltiple para obtener la ecuación polinomial:  $Y = b_0 + b_1X_1 + b_2X_2 + b_3X_3 + b_{11}X_1^2 + b_{22}X_2^2 + b_{23}X_2X_3 + b_{33}X_3^2$ .

En cada corrida experimental se utilizaron erlenmeyers (250 mL de volumen efectivo) que contenían 50 g de pulpa de henequén, pero se variaron las concentraciones de las variables independientes ( $X_1$ ,  $X_2$  y  $X_3$ ) según la matriz codificada. Se ajustó en cada uno el pH inicial de la fermentación (6,5) con NaOH 1N y se procedió a su esterilización (15 min a 1,5 atm). Posteriormente, se añadió el inóculo PROBIOLACTIL® según el diseño de los experimentos y una vez que transcurrieron 24 h a 30 °C, se tomaron muestras del biopreparado para realizar el conteo de las UFC. Las corridas se realizaron por triplicado.

Para la evaluación del efecto del biopreparado simbiótico en terneros se realizó un experimento por 28 días en la Recría 306, perteneciente a la Empresa Pecuaria Genética de Matanzas. El trabajo se realizó en los meses junio-julio de 2018, en el período lluvioso del año. Se utilizaron 30 animales a partir de 7 semanas (50 días) de edad, típicos de la raza Mambí de Cuba.

Para el desarrollo del experimento se empleó un diseño completamente aleatorizado con tres grupos experimentales (tratamientos). 1. Grupo control (10 animales) con dieta basal, 2. Grupo con la aplicación de pulpa de henequén, 3. Grupo con la aplicación del biopreparado simbiótico. Los 30 terneros se seleccionaron aleatoriamente con una edad entre 49 y 50 días de nacidos y un peso vivo promedio de 48,2 kg. Cuando los animales tenían 50 días se les suministró pienso completo de lactancia/lactoreemplazante (Raltec®) o sustituto lácteo y pienso complementario de lactancia (Raltec®). Una vez que tuvieron 84 días se le suministró pienso complementario de lactancia (Raltec®) y forraje de *Pennisetum purpureum* (king grass).

Se evaluaron indicadores productivos y de salud como peso vivo, incremento de peso, ganancia media diaria y además se registró diariamente la incidencia de diarreas.

Para el análisis estadístico y decodificación de las variables en el diseño y optimización del biopreparado, los resultados del conteo de las UFC.mL<sup>-1</sup> se transformaron a LN. Se evaluó la significación de cada uno de los parámetros del modelo y se determinó la superficie de respuesta con el uso del programa Statgraphics Plus versión 5.1 (2002). A partir del modelo se definieron los valores óptimos de las variables independientes. En el experimento *in vivo*, los datos se procesaron con el paquete estadístico INFOSTAT, versión 2012 (Di Rienzo et al., 2012). En los casos en que los datos cumplieron los requisitos exigidos se procesaron mediante ANOVA de clasificación simple y para la comparación de medias se utilizó la Prueba de Rangos Múltiples de Duncan (1955). Para la evaluación de la incidencia de diarreas se utilizó el análisis de proporciones CompaProp (Castillo & Miranda, 2014) con un 95 % de confianza.

## Resultados y discusión

En la tabla 1 se presenta la matriz codificada con cada una de las combinaciones y los resultados que se obtuvieron para el conteo de las UFC.g<sup>-1</sup> (expresado en LN UFC.g<sup>-1</sup>) de *Lactobacillus salivarius* en el biopreparado. Del procesamiento estadístico del diseño y ajuste de los datos resultó el siguiente modelo:  $LN\ UFC.g^{-1} = 5,38319 + 0,649132 * X_1 + 2,26854 * X_2 + 0,976018 * X_3 - 0,0297623 * X_1^2 - 0,0206667 * X_1 * X_2 + 0,0285667 * X_1 * X_3 - 0,83952 * X_2^2 + 0,111167 * X_2 * X_3 - 0,0775626 * X_3^2$ .

Este modelo estimó, según los datos experimentales, que el conteo de las UFC.g<sup>-1</sup> tuvo un valor máximo cuando  $X_1$ ,  $X_2$  y  $X_3$  presentaban las concentraciones óptimas que se muestran en la Tabla 1. Se puede apreciar, que el factor de mayor influencia en la variable respuesta fue la concentración de NT, lo cual indica, que los niveles de nitrógeno que se utilizaron afectan el conteo de viables.

**Tabla 1. Matriz codificada y resultados del conteo de UFC.mL-1 (transformados a LN) para el crecimiento de *Lactobacillus salivarius* según diseño compuesto central rotativo.**

ART	NT	Inóculo	LN UFC.g <sup>-1</sup>	LN UFC.g <sup>-1</sup>
10	1	5	13,13	13,85
20	3	5	11,51	11,51
20	1	15	13,82	14,91
15	0,318207	10	17,03	15,42
15	2	10	18,46	19,74
15	2	1,59104	11,61	12,21
10	3	5	15,61	13,82
10	1	15	13,82	14,91
15	2	18,409	11,51	11,51
20	1	5	14,51	14,51
10	3	15	13,82	13,82
20	3	15	17,77	16,86
15	2	10	15,69	16,01

23,409	2	10	14,91	13,82
6,59104	2	10	15,42	15,76
15	3,68179	10	13,30	14,15

ART. Azúcares reductores totales; NT. Nitrógeno total

La decodificación de las variables permitió calcular los valores de ART (15,26), NT (1,85) e inóculo óptimos (10,43) para la variable respuesta evaluada (Tabla 2). Estos resultados indican que el biopreparado simbiótico debe contener estos niveles aportados por la miel y el hidrolizado enzimático de levaduras respectivamente, para que se obtenga una respuesta máxima en el conteo de viables. La representación gráfica de la superficie de respuesta del modelo muestra la presencia de óptimos de ART (X<sub>1</sub>), NT (X<sub>2</sub>) e inóculo (X<sub>3</sub>) para la variable respuesta (LN UFC.g<sup>-1</sup>) y se observa, de forma definida, la zona de concavidad característica de los máximos.

La decodificación de las variables permitió calcular los valores de ART (15,26), NT (1,85) e inóculo óptimos (10,43) para la variable respuesta conteo de UFC.g<sup>-1</sup> (Tabla 2).

**Tabla 2. Composición del biopreparado simbiótico.**

Composición	Valor óptimo	Composición final
Pulpa de henequén, kg	1	1
Miel final, g (58 % de ART)	15,26	25,86
Hidrolizado enzimático de levadura (17 % NT)	1,85 g	11,17 mL
Inóculo, mL PROBIOLACTIL®	10,43	10,43

Se reconoce que el método de superficie de respuesta es efectivo para la optimización de los medios de cultivo, debido a que la actividad microbiana no solo se afecta por los componentes del biopreparado y sus concentraciones, sino también por las interacciones entre estos (Rodríguez Bernal et al., 2014).

Los lactobacilos requieren medios complejos con diversos aminoácidos, vitaminas, factores de crecimiento, carbohidratos fermentables, etc., que estimulan su crecimiento (Liew et al., 2005). La formulación del nuevo biopreparado se condujo principalmente para la utilización de la pulpa de henequén que posee alta concentración de inulina, con la inclusión de fuentes de carbohidratos y proteínas, aportados por la miel final y el hidrolizado enzimático. Este aporte se realiza para el incremento de los microorganismos probióticos (*Lactobacillus*), quienes requieren estos nutrientes para su rápido crecimiento y colonización.

La miel final de caña de azúcar posee en su composición sacarosa, glucosa y fructosa (Cabello,

1980). Estos carbohidratos aportan altas concentraciones de ART, los cuales pueden utilizarse por los microorganismos como fuente de energía. Otros autores como Sosa et al. (2018) plantean que actualmente se emplea la miel final en la composición de medios de cultivo para el crecimiento de microorganismos con fines probióticos, ya que se incrementa la población microbiana y la velocidad de crecimiento.

Pérez et al. (2006) establecieron la metodología para la obtención de un hidrolizado enzimático con crema de levadura *Saccharomyces cerevisiae* procedente de los residuos de las plantas de fermentación alcohólica del país. Este producto presenta en su composición entre 16 y 20 % de NT, por lo que constituye una alternativa para la incorporación de fuentes nitrogenadas en los biopreparados.

En la Tabla 2 se muestra el comportamiento del peso vivo en los animales tratados con respecto al control durante el experimento. Como se puede observar, a los 28 días de iniciado el experimento se produjo el incremento del peso vivo (P ≤ 0,05) en el grupo donde se aplicó el biopreparado simbiótico, en comparación con el control y con el tratamiento donde se aplicó pulpa de henequén.

**Tabla 3. Comportamiento de los indicadores productivos al final del experimento.**

Indicador	G-1	G-2	G-3	±EE P
PV	57,4 <sup>a</sup>	62,3 <sup>b</sup>	66,2 <sup>c</sup>	1,61 0,012
IP	8,80 <sup>a</sup>	12,10 <sup>b</sup>	18,40 <sup>c</sup>	0,52 0,001
GMD	0,31 <sup>a</sup>	0,43 <sup>b</sup>	0,65 <sup>c</sup>	0,02 0,001

PV. Peso vivo, IP. Incremento de peso, GMD. Ganancia media diaria.

El incremento del peso vivo de los animales que consumieron el biopreparado simbiótico puede estar asociado 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 el balance de los microorganismos intestinales y proporcionan una mejor respuesta de los procesos digestivos en el hospedero (Flores, 2015; Adjei-Fremah et al., 2018).

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) expresaron que los probióticos pueden soportar condiciones específicas en el TGI como resistir por más de 4 horas a las enzimas proteolíticas, a 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



superan las barreras ácida y biliar en el tracto digestivo.

Los efectos positivos de los probióticos y prebióticos en el TGI también se reflejan en el rendimiento productivo de los animales (Bartkiene et al., 2018). La inclusión del simbiótico en las raciones de esta especie también influyó positivamente en los indicadores productivos. Numerosos investigadores refieren que estos aditivos pueden mejorar el peso vivo, la ganancia diaria y la conversión alimenticia (Zhang et al., 2016).

Estos resultados se relacionan con las funciones que desarrollan los probióticos, ya que se considera que estos 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 (Simmering & Blaut, 2001).

Los ácidos grasos de cadena corta (AGCC) que se producen en el TGI se metabolizan en la mucosa y cuando se emplean probióticos se produce una mejora en el balance microbiano, incrementándose a su vez los microorganismos beneficiosos. De esta manera si se produce en el intestino el incremento de los AGCC, habrá mayor biodisponibilidad de estas sustancias como fuentes de energía (Rondón & Laurencio, 2008).

Los lactobacilos liberan enzimas que mejoran la capacidad digestiva de los animales, inactivan eficazmente los metabolitos tóxicos de la biota perjudicial y hacen que se incremente el proceso de absorción por un mejor estado celular de las vellosidades, y una mayor síntesis de vitaminas (Segura & De Bloss, 2000).

Existen evidencias de que al utilizar los microorganismos probióticos, fundamentalmente cepas de *Lactobacillus* spp., ya sean monocultivos o mezclas, 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 los microorganismos probióticos *Lactobacillus plantarum* GF103 y *Bacillus subtilis* B27. Estos autores refirieron que se produjo una mejora en la digestibilidad de los nutrientes y en 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<sup>®</sup>) 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. Como resultado se obtuvo que los terneros que consumieron el biopreparado 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 & Bandla (2010), demostraron que la administración del probiótico *Lactobacillus acidophilus* mejoró el aumento de peso diario medio (ADG) y la eficiencia de forraje (EF). Por su parte Zapata (2011) evaluó el efecto del probiótico Vitafer<sup>®</sup> en terneros pre-destete y obtuvieron mejores resultados ( $P < 0,05$ ) en el peso vivo al final del experimento.

En la Tabla 4 se observa el comportamiento de la incidencia de diarreas en los animales que consumieron el biopreparado simbiótico con respecto al grupo control.

**Tabla 4. Incidencia de diarreas en los animales en estudio.**

Semanas	Tratamientos	Proporción	EE
1	(1)	0,30	0,14
	(2)	0,20	0,14
	(3)	0,10	0,13
2	(1)	0,20	0,11
	(2)	0,10	0,11
	(3)	0,00	0,13
3	(1)	0,10	0,07
	(2)	0,00	0,07
	(3)	0,00	0,09
4	(1)	0,00	0,00
	(2)	0,00	0,00
	(3)	0,00	0,00

1. Grupo control, 2. Animales que fueron tratados con pulpa de henequén y 3. Animales tratados con el biopreparado simbiótico.

A pesar de que no existen diferencias estadísticas, se puede apreciar que desde el punto de vista biológico hubo un ligero aumento en la presentación de diarreas en el grupo control con respecto al grupo tratado, además de que a medida que avanzaba el tiempo en semanas disminuía esta afectación, lo cual evidencia que se produce la colonización de las bacterias presentes en el producto simbiótico.

Los resultados que se obtienen en la disminución de la incidencia de diarreas en los animales tratados con el biopreparado simbióticos 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 (Saalfeld et al., 2016).

Los microorganismos que se utilizan como probióticos se caracterizan por producir diferentes sustancias que inhiben a los microorganismos patógenos. Estos últimos poseen la capacidad de adherirse a la mucosa intestinal de los animales y causar enfermedades entéricas (Bajagai et al., 2016). Los probióticos también poseen la capacidad de estimular el sistema inmune de los animales y producen ácidos orgánicos que disminuyen el pH del lumen intestinal, acción que disminuye la proliferación de bacterias patógenas (Zapata, 2011; Fernández 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 (Liepa & Viduža, 2018) Otros autores como Thomas & Elliott (2013) y Bertin et al. (2017) 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.

Se conoce que las micotoxinas y enterotoxinas disminuyen por acción de los aditivos (Bi et al., 2017). Baines et al. (2013) aplicaron una mezcla de prebióticos / probióticos la cual eliminó la morbosidad y las pérdidas por mortalidad relacionadas con las infecciones del tracto gastrointestinal por *Escherichia coli*.

Se plantea que cuando se emplean probióticos a base de *Lactobacillus* se obtienen mejores resultados en la disminución de las diarreas en las primeras semanas de vida de los terneros. En este sentido Satik & Günel (2017) investigaron el efecto del kéfir como probiótico en el rendimiento y el estado de salud de los terneros. Como resultado los animales tendieron a tener un efecto positivo en la población de las bacterias ácido lácticas en las heces fecales a los 14 días y la reducción de las enfermedades diarreicas.

## Conclusiones

El nuevo biopreparado, diseñado a partir de la aplicación de un cultivo probiótico a residuos agroindustriales, enriquecidos con componentes nacionales y de alta disponibilidad, constituye un aditivo simbiótico que puede emplearse como aditivo nutricional en terneros, durante la etapa de destete en recría, ya que los animales que consumieron el biopreparado simbiótico mostraron mejoras en el peso vivo, el incremento de peso y la ganancia media diaria.

## Contribución de los autores

Ana Julia Rondón Castillo: Diseño, planeación de la investigación, análisis de resultados, redacción del artículo, revisión final.

Arianne del Valle Pérez: Desarrollo de la parte experimental, análisis de los resultados y redacción del artículo.

Grethel Milián Florido: análisis de resultados, redacción del artículo, revisión del artículo.

Fátima Arteaga Chávez: Revisión crítica del manuscrito, análisis de resultados.

Marlen Rodríguez Oliva: análisis de resultados, redacción del artículo, revisión del artículo.

Marlene Martínez Mora: Desarrollo de la parte experimental, análisis de los resultados y redacción del artículo.

## Conflictos de interés

No se declaran conflictos de interés.

## Agradecimientos

A los especialistas y técnicos de la Empresa Genética de Matanzas, Cuba, por la colaboración en el desarrollo del experimento con los terneros.

## Referencias

- Abreu y Abreu, A. T. (2014). Probióticos, prebióticos y simbióticos. *Revista de Gastroenterología de México*, 79(Supl.1), 17-18. Recuperado el 12 de marzo de 2018, de: <http://www.revistagastroenterologiamexico.org/index.php?p=revista&tipo=pdf-simple&pii=X0375090614691212>
- Adjei-Fremah, S., Ekwemalor, K., Asiamah, E. K., Ismail, H., Ibrahim, S., & Worku, M. (2018). Effect of probiotic supplementation on growth and global gene expression in dairy cows. *Journal of Applied Animal Research*, 46:1, 257-263, doi: <https://doi.org/10.1080/09712119.2017.1292913>
- Alzahal, O., McGill, H., Kleinberg, A., Holliday, J. I., Hindrichsen, I. K., Duffield, T. F., & McBride, B.W. (2014). Use of a direct-fed microbial product as a supplement during the transition period in dairy cattle. *J Dairy Sci.*, 97 (11), 7102-7114, doi: <https://doi.org/10.3168/jds.2014-8248>
- 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.*, 84, 1222-1231. Recuperado el 12 de marzo de 2018, de: <https://primalac.com/wp-content/uploads/2015/08/Angel-Reduced-Nutrient.pdf>

- Baines, D., Sumarah, M., Kuldau, G., Juba, J., Mazza, A., & Masson, L. (2013). Aflatoxin, fumonisin and Shiga toxin-producing *Escherichia coli* infections in calves and the effectiveness of Celmanax®/Dairyman's Choice™ applications to eliminate morbidity and mortality losses. *Toxins*, 5, 1872-1895, doi: <https://doi.org/10.3390/toxins5101872>
- Bajagai, Y. S., Klieve, A. V., Dart, P. J., & Bryden, W.L. (2016). Probiotics in ruminant Nutrition. En: H.P.S. Makkar (Ed.), *FAO Animal Production and Health Paper*, (No. 179, pp. 37-48). Roma, Italia: FAO. Recuperado el 12 de marzo de 2018, de: <http://www.fao.org/3/a-i5933e.pdf>
- Bartkiene, E., Bartkevics, V., Ikkere, L. E., Pugajeva, I. Zavistanaviciute, P., Lele, V.,... Juodeikiene, G. (2018). The effects of ultrasonication, fermentation with *Lactobacillus* sp., and dehydration on the chemical composition and microbial contamination of bovine colostrum. *J. Dairy Sci.*, 101(8), 6787–6798, doi: <https://doi.org/10.3168/jds.2018-14692>
- Bertin, Y., Habouzit, C., Dunière, L., Laurier, M., Durand, L., Duchez, D.,... Forano, E. (2017). *Lactobacillus reuteri* suppresses *E. coli* O157:H7 in bovine ruminal fluid: Toward a pre-slaughter strategy to improve food safety? *PLoS ONE*, 12(11), e0187229, doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0187229>
- Bi, Y., Yang, Ch., Diao, Q., & Tu, Y. (2017). Effects of dietary supplementation with two alternatives to antibiotics on intestinal microbiota of preweaned calves challenged with *Escherichia coli* K99. *Scientific Reports*, 7 (5439). Recuperado el 15 de marzo de 2018, de: <https://www.nature.com/articles/s41598-017-05376-z>
- Box, G. E. P., Hunter, W.G., & Hunter, J. S. (1978). *Statistics for experimenters: an introduction to design, data analysis, and model building*. New York, USA: John Wiley y Sons.
- Cabello, A. (1980). Utilización de los subproductos de la industria azucarera en la alimentación animal. *Derivados de la caña de azúcar. ICIDCA*: 393-419.
- Calzadilla Dodd, D., Castro, A., Soto Márquez, E. Hernández Rodríguez, M., & Andrial, P. (1999). *Ganadería tropical*. La Habana, Cuba: Editorial Félix Varela.
- Castañeda Guillot, C. (2018). Probióticos, puesta al día. *Revista Cubana de Pediatría*, 90(2), 286 – 298. Recuperado el 15 de marzo de 2018, de: <http://scielo.sld.cu/pdf/ped/v90n2/ped09218.pdf>
- Castillo Duvergel, Y., & Miranda, I. (2014). COMPAPROP: Sistema para comparación de proporciones múltiples. *Rev. Protección Veg.*, 29(3), 231-234. Recuperado el 15 de marzo de 2018, de: <http://scielo.sld.cu/pdf/rpv/v29n3/rpv13314.pdf>
- Corzo, G., & Gilliland, S. E. (1999). Bile salt hydrolase activity of three strains of *Lactobacillus acidophilus*. *J. Dairy Sci.*, 82, 472-480, doi: [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(99\)75256-2](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(99)75256-2)
- Duncan, B. (1955). Multiple ranges and multiple F. Test. *Biometrics*, 11, 1-42.
- FAO/OMS. (1-4 de octubre, 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. En *Probióticos en los alimentos. Propiedades saludables y nutricionales y directrices para la evaluación*. (No. 85). Córdoba, Argentina: Autor. Recuperado el 15 de marzo de 2018, de: <http://www.fao.org/3/a-a0512s.pdf>
- Fernández, S., Fraga, M., Silveyra, E., Trombert, A.N., Rabaza, A., Pla, M., & Zunino, P. (2018). Probiotic properties of native *Lactobacillus* spp. strains for dairy calves. *Beneficial Microbes*, 9 (4), 613 - 624, doi: <https://doi.org/10.3920/BM2017.0131>
- 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.
- García Curbelo, Y., Bocourt, R., Savón, L. L., García Vieyra, M. I., & López, M. G. (2015). Prebiotic effect of Agave fourcroydes fructans: an animal model. *Food Funct.* 6(9), 3177–3182, doi: 10.1039/c5fo00653h
- Koteswara Reddy, G., Mohana Lakshmi, S., Ashok Kumar, C. K., Satheesh Kumar, D., & Lakshmi Srinivas, T. (2013). Evaluation of anti-inflammatoy and antioxidant activity of methanolic extract of Agave. *Journal of Global Trends in Pharmaceutical Sciences*, 4(4), 1300-1309. Recuperado el 13 de mayo de 2018, de: [https://www.jgtps.com/admin/uploads/fvtXs\\_n.pdf](https://www.jgtps.com/admin/uploads/fvtXs_n.pdf)
- Liepa, L., & Viduža, M. (2018). The effect of peroral administration of *Lactobacillus fermentum* culture on dairy cows health indices. *Macedonian Veterinary Review*, 41(2), 143-151. Recuperado el 5 de enero de 2019, de:

- <https://www.macvetrev.mk/2018-2/macvetrev-2018-0017.pdf>
- Liew, S. L., Ariff, A. B., Raha, A. R., & Ho, Y. W. (2005). Optimization of medium composition for the production of a probiotic microorganism, *Lactobacillus rhamnosus*, using response surface methodology. *International J. of Food Microbiol.*, 102, 137-142, doi: <https://doi.org/10.1016/j.jfoodmicro.2004.12.009>
- MacPherson, C., Audy, J., Mathieu, O., & Tompkins, T. A. (2014). Multistrain probiotic modulation of intestinal epithelial cells' immune response to a double stranded RNA ligand, poly (I·). *Appl Environ Microb.*, 80(5), 1692–1700, Recuperado el 16 de marzo de 2018, de: <https://aem.asm.org/content/aem/80/5/1692.full.pdf>
- Malacari, D. A. (2016). *Guía para la crianza y mantenimiento de terneros privados de calostro para su utilización como modelo animal*. Buenos Aires: INTA. Recuperado el 16 de marzo de 2018, de: [https://inta.gob.ar/sites/default/files/inta\\_-\\_guia\\_para\\_la\\_crianza\\_y\\_mantenimeinto\\_de\\_terneros\\_privados\\_de\\_calostro\\_0.pdf](https://inta.gob.ar/sites/default/files/inta_-_guia_para_la_crianza_y_mantenimeinto_de_terneros_privados_de_calostro_0.pdf)
- 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. *Tropical Animal Health and Production*, 42(6), 1263-1269, doi: <https://doi.org/10.1007/s11250-010-9559-5>
- Olagnero, G., Abad, A., Bendersky, S., Genevois, C., Granzella, L., & Montonati, M. (2007). Alimentos funcionales: fibra, prebióticos, probióticos y simbióticos. *Diaeta*, 25(121), 20- 33. Recuperado el 15 de marzo de 2018, de: <http://andeguat.org.gt/wp-content/uploads/2015/03/Alimentos-funcionales-fibra-prebi%C3%B3ticos-probi%C3%B3ticos-y-simbi%C3%B3ticos1.pdf>
- Pandey, R., Suresh, R. N., & Babu, V. (2015). Probiotics, prebiotics and synbiotics - a review. *Association of Food Scientists y Technologists*, 52(12), 7577-7587. Recuperado el 8 de enero de 2019, de: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4648921/>
- Pérez, M. Q., Milián, G., Piad, R. B., González, R. C., Bocourt, R. S., & Savón, V. (2006). Hidrolizado de fondaje de cubetas de destilerías de alcohol con un crudo enzimático de la cepa de *Bacillus licheniformis* E-44 y su procedimiento de obtención. Patente No. 23179. (Int.cl.8) A 23 J 1/00,3/30, C 12N 9/56.
- Rodríguez Bernal, J. M., Serna Jiménez, J. A., Uribe Bohórquez, M. A., Klotz, B., & Quintanilla-Carvajal, M. X. (2014). Aplicación de la metodología de superficie de respuesta para evaluar el efecto de la concentración de azúcar y de cultivos iniciadores comerciales sobre la cinética de fermentación del yogurt. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 13(1), 213-225. Recuperado el 16 de junio de 2018, de: [www.scielo.org.mx/pdf/rmiq/v13n1/v13n1a17.pdf](http://www.scielo.org.mx/pdf/rmiq/v13n1/v13n1a17.pdf)
- Rondón, A. J., & Laurencio, M. (2008). Utilización de las mezclas de Exclusión Competitiva en la avicultura moderna. *Rev. Cienc. Agríc.*, 42(1), 3-11. Recuperado el 16 de junio de 2018, de: <https://www.redalyc.org/html/1930/193015413001/>
- Saalfeld, M. H., Brayer Pereira, D. I., Silveira Valente, J. S., Lopes Borchardt, J. L., Weissheimer, C. F., Arocha Gularte, M., & Pereira Leivas Leite, F. (2016). Effect of anaerobic bovine colostrum fermentation on bacteria growth inhibition. *Ciênc. Rural*, 46(12), 2152–2157, doi: <http://dx.doi.org/10.1590/0103-8478cr20160393>
- Sánchez, L., Omura, M., Lucas, A., Pérez, T., Llanes, M., & Ferreira, C. de L. (2015). Strains of *Lactobacillus* spp. with probiotic capacity isolated from the intestinal tract of calves. *Rev Salud Anim.*, 37(2), 94-104.
- Satik, S., & Günal, M. (2017). Effects of kefir as a probiotic source on the performance and health of young dairy calves. *Turkish Journal of Agriculture - Food Science and Technology*, 5(2), 139-143. Recuperado el 16 de junio de 2018, de: [http://agrifoodscience.com/index.php/TURJ\\_AF/article/download/978/467](http://agrifoodscience.com/index.php/TURJ_AF/article/download/978/467)
- Segura, A., & De Bloss, M. (2000). La alternativa a los promotores del crecimiento. En *III Congreso Nacional de Avicultura. Memorias*. (pp. 37-44). Varadero, Cuba: Centro de Convenciones Plaza América.
- Signorini, M. L., Soto, L. P., Zbrun, M. V., Sequeira, G. J., Rosmini, M. R., & Frizzo, L. S. (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), 250-258, doi: <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2011.05.001>
- Simmering, R., & Blaut, M. (2001). Pro- and prebiotics-the tasty guardian angles? *Appl. Microbiol. Biotech.*, 55(1), 19-28, doi: <https://doi.org/10.1007/s002530000512>
- Sosa Cossio, D., García Hernández, Y., & Mendoza Dustet, J.C. (2018). Development of



- probiotics for animal production. experiences in Cuba. *Cuban Journal of Agricultural Science*, 52(4), 357-373. Recuperado el 16 de enero de 2019, de: <http://www.cjascience.com/index.php/CJAS/article/download/836/868>
- Statgraphics. (2002). *Statgraphics Plus version 5.1*. USA: Statgraphic Technical Support Center. Manugistics, Inc., Rockville, Maryland.
- Thomas, D., & Elliott, E. (2013). Interventions for preventing diarrhea-associated hemolytic uremic syndrome: systematic review. *BMC Public Health*, 3(13), 799, doi: <https://doi.org/10.1186/1471-2458-13-799>
- Uyeno, Y., Shigemori, S., & Shimosato, T. (2015). Effect of Probiotics/Prebiotics on cattle health and productivity. *Microbes Environ*, 30(2), 126–132, doi: [10.1264/jsme2.ME14176](http://dx.doi.org/10.1264/jsme2.ME14176)
- Zapata, C. (2011). *Valoración de los efectos del cultivo de lactobacilos (Vitafert) en la cría de terneros en Tabasco*. (Tesis Maestría en Ciencias, especialista en Producción Agroalimentaria en el Trópico). Colegio de Postgraduados, México. Recuperado el 16 de mayo de 2017, de: <http://hdl.handle.net/10521/581>
- Zhang, R., Zhou, M., Tu, Y., Zhang, N. F., Deng, K. D., Ma, T., & Diao, Q. Y. (2016). Effect of oral administration of probiotics on growth performance, apparent nutrient digestibility and stress-related indicators in Holstein calves. *J Anim Physiol Anim Nutr (Berl)* 100 (1), 33-80, doi: [10.1111/jpn.12338](https://doi.org/10.1111/jpn.12338)