

Consumo y digestibilidad de una dieta para corderos basada en henos de gramíneas tropicales y de la invasora *Hyparrhenia rufa* al incorporarle un probiótico aportador de *Bacillus subtilis* y *Bacillus licheniformis*

Por

Enrique M. Martínez Loarte

Tesis sometida en cumplimiento parcial de los requisitos para el grado de

MAESTRO EN CIENCIAS

en

INDUSTRIA PECUARIA

UNIVERSIDAD DE PUERTO RICO
RECINTO UNIVERSITARIO DE MAYAGUEZ
2013

Aprobado por:

Abner A. Rodríguez Carías, Ph. D.
Presidente del Comité Graduado

Fecha

John Fernández Van Cleve, Ph. D.
Miembro del Comité Graduado

Fecha

Paul F. Randel Folling, Ph. D.
Miembro del Comité Graduado

Fecha

Luis C. Solórzano, Ph. D.
Miembro del Comité Graduado

Fecha

José R. Latorre Acevedo, Ph. D.
Director del Departamento

Fecha

Carmen Bellido, Ph. D.
Representante de Estudios Graduados

Fecha

ABSTRACT

An experiment consisting of two periods (P1 and P2) was conducted to determine the effect of adding a probiotic of bacterial strains of *Bacillus subtilis* and *B. licheniformis* to a basal diet of low quality grass hays and a moderate supplementation with concentrates on voluntary consumption (VC) and digestibility, utilizing 10 Creole lambs (11.2 kg initial live weight, LW). The animals were randomly assigned to one of two treatments; control (without additive) or probiotic (additive in diet). The basal diet consisted of a daily forage offering equal to 4% of LW on a dry matter (DM) basis. The forage offered was 50% native grass hay (71.7% NDF, 4.9% CP in P1 and 71.2% NDF, 5.4% CP in P2) and 50% of *Hyparrhenia rufa* hay (78.8% NDF, 3.5% CP in P1 and 75.6% NDF, 5.5% CP in P2). The lambs were supplemented with 225 g daily of commercial concentrate (CC). The additive was fed in mixture with the CC to supply 1.33×10^8 cfu/head daily during the first 49 days (P1). From day 50 to 84 (P2), the probiotic addition was suspended to determine possible residual effects. The lambs were weighed weekly during the whole experiment. The VC and digestibility of DM, NDF and CP were determined from day 42 to 49 in P1 and from day 77 to 84 in P2. The variables related to parasitism and anemia: fecal eggs count (FEC), FAMACHA[®] index score and packed cell volume (PCV) were determined every 21 days. Data from each experimental period were analyzed according to a completely randomized design with 5 replicas per treatment. During P1, the daily LW gain of the lambs was 23 vs. 20 g and total LW gain was 1.14 vs. 1.00 kg for control and probiotic treatments, respectively. The dietary addition of probiotic increased ($p < 0.05$) total DM intake (445 vs. 484 g/d), DM intake as a percentage of LW (2.04 vs. 2.37) and forage DM as a percentage of total DM intake (54.77 vs. 59.42). The digestibility coefficients of DM (59.98 vs. 62.62%) and CP (59.35 vs. 61.76%) did not differ between treatments, but there was a tendency ($p = 0.09$) to improve NDF digestibility (58.71 vs. 62.48%) with probiotic addition. The FEC observed in the control and probiotic groups were 820 vs. 1380 epg initially and increased more in the control ($p < 0.05$) to 2390 vs. 2780 epg at day 21, then decreased less in this group to 1830 vs. 1480 epg at day 42. The PCV values changed between days 0 and 42 from 24.4 to 17.9% in the control and from 20.6 to 22.6 in the probiotic group, but without significant effects ($p > 0.05$). The anemia level according to FAMACHA[®] score differed little between treatments and did not exceed a maximum of 2.6. During P2, the LW gain of the lambs of both groups was 48 g/d upon comparing the control and previous probiotic treatments. Total DM intake was 587 vs. 562 g/d and the digestibilities were: DM (58.46 vs. 57.59%), NDF

(57.50 vs. 56.85%) and CP (60.78 vs. 62.11%) without significant differences ($p>0.05$). The FEC decreased progressively to respective final values at 84 days of 1230 vs. 440 epg, while the PCV increased to 23.4 vs. 25.1% at day 84 without significant differences. The maximum FAMACHA[®] score was 2.8 vs. 2.2 in the two respective treatments. In summary, the addition of probiotic in the diet improved VC by the lambs and tended to increase NDF digestibility, did not affect growth, but showed some signs of benefiting animal health. After suspending additive inclusion in the diet, no residual effect on the evaluated variables was observed.

RESUMEN

Se realizó un experimento de dos periodos (P1 y P2) para determinar el efecto de la inclusión de un probiótico aportador de las bacterias *Bacillus subtilis* y *B. licheniformis* en una dieta basada en henos de gramíneas de baja calidad y un modesto suplemento de alimento concentrado sobre el consumo voluntario (CV) y digestibilidad utilizando 10 ovinos criollos con un peso vivo (PV) inicial promedio 11.2 kg. Estos se asignaron aleatoriamente a uno de dos tratamientos, sin (control) o con el probiótico dietético. La dieta basal constó de un ofrecimiento diario de forraje igual al 4% del PV en base seca. El forraje consistió de 50% de heno de gramíneas tropicales naturalizadas (71.7% FDN, 4.9% PB en P1 y 71.2% FDN, 5.4% PB en P2) y 50% de heno de *Hyparrhenia rufa* (78.8% FDN, 3.5% PB en P1 y 75.6% FDN, 5.5% PB en P2). Todos los ovinos se suplementaron con 225 g diarios de concentrado comercial (CC). Los ovinos recibieron el aditivo en mezcla con el CC para suplir 1.33×10^8 ufc/animal diariamente durante los primeros 49 días (P1). Del día 50 al 84 (P2) se suspendió el ofrecimiento del aditivo para determinar posibles efectos residuales del mismo. Se pesaron los corderos semanalmente durante todo el experimento. El CV y digestibilidad de la MS, FDN y PB se determinó del día 42 al 49 en P1 y del día 77 al 84 en P2. Las variables indicativas de parasitismo y anemia; conteo de huevos en las heces (CHH), valor asignado por el método FAMACHA® y el hematocrito se determinaron cada 21 días. Los datos por periodo experimental se analizaron según un diseño completamente aleatorizado con 5 repeticiones por tratamiento. Durante el P1, la ganancia en PV de los ovinos fue de 23 vs. 20 g/día y 1.14 vs. 1.00 kg en total para los tratamientos control y con probiótico, respectivamente. La adición dietética del probiótico aumentó ($p < 0.05$) el consumo total de MS (445 vs. 484 g/d), dicho consumo como porcentaje del PV (2.04 vs. 2.37) además del consumo de MS de forraje como porcentaje del consumo de MS total (54.77 vs. 59.42). La digestibilidad porcentual de MS (59.98 vs. 62.62) y de PB (59.35 vs. 61.76) no difirió entre tratamientos, pero hubo tendencia ($p = 0.09$) a mejorar la digestibilidad de FDN con el probiótico (58.71 vs. 62.48). Por otro lado, el CHH de los respectivos grupos testigo y con probiótico fue 820 vs. 1380 h/g inicialmente y aumentó más ($p < 0.05$) en el testigo a 2390 vs. 2780 h/g al día 21 y luego bajar menos a 1830 vs. 1480 h/g al día 42. El hematocrito cambió entre los días 0 y 42 de 24.4 a 17.9 en el testigo y de 20.6 a 22.6 en el grupo con probiótico, pero sin efectos significativos ($p > 0.05$). El nivel de anemia estimado según el método FAMACHA® difirió mínimamente entre ambos tratamientos y no pasó de un valor máximo de 2.6. Durante el P2, la ganancia en PV de los ovinos de ambos grupos (testigo y

previamente con el probiótico) fue 48 g/día. Al comparar estos dos respectivos grupos el consumo de MS fue 587 vs. 562 g/día y las digestibilidades fueron: MS (58.46 vs. 57.59%), FDN (57.50 vs. 56.85%) y PB (60.78 vs. 62.11%) sin diferencias ($p>0.05$). El CHH bajó progresivamente a respectivos valores finales a los 84 días de 1230 y 440 h/g, mientras el hematocrito subió a valores de 23.4 y 25.1% a los 84 días, sin diferencias ($p>0.05$). El valor máximo de FAMACHA® fue 2.8 y 2.2 en los dos respectivos tratamientos. En resumen, la adición del probiótico a la dieta de los ovinos mejoró el CV y tendió a aumentar la digestibilidad de FDN, no afectó el crecimiento, pero dió ciertos indicios de favorecer la salud animal. Después de suspender el aditivo, no se observó ningún efecto residual del mismo sobre las variables evaluadas.

DEDICATORIA

Este trabajo que con mucha dedicación realicé se lo quiero dedicar a mis padres, Manuel E. Martínez Arbona y Wanda I. Loarte Fontán por su apoyo incondicional, por proveerme las herramientas necesarias para que pudiera lograr mis metas y por permitir que esta etapa de mi vida fuera de mucho aprendizaje y conocimiento para mi futuro.

AGRADECIMIENTOS

Primero le doy gracias a Dios por darme la salud y las fuerzas para realizar este trabajo. Agradezco a Abner A. Rodríguez Carías por darme la oportunidad de trabajar con él y por haber estado durante estos 2 años dirigiéndome para realizar un buen trabajo. Agradezco al proyecto Z-236 y a los miembros del comité. Al Dr. Randel por las correcciones. Agradezco al Dr. Solórzano por siempre estar en la mejor disposición. Quiero agradecer a mis compañeros de clase más cercanos Carlos A. Rosario, Viviana I. Rivera, Giovanna Emanuelli y Samuel Prieto ya que fueron los que estuvieron desde el comienzo de la maestría como amigos y dándome la mano. Al resto de los compañeros de maestría y no menos importantes. Al administrador de la Finca Alzamora de la Universidad de Puerto Rico, José A. Muñoz, primero por la gran amistad y segundo por la colaboración durante la investigación en la finca. A Gabriel Figueroa y el resto del personal que colaboró junto a mi para realizar la investigación. Gracias al personal del Departamento de Industria Pecuaria por la ayuda brindada.

TABLA DE CONTENIDO

Contenido	Página
Abstract	ii
Resumen	iv
Dedicatoria	vi
Agradecimientos	vii
Tabla de contenido	viii
Lista de cuadros	xi
Lista de figuras	xiii
Lista de abreviaturas	xiv
1.0. Introducción	1
2.0. Objetivos	3
3.0. Revisión de Literatura.....	4
3.1 Factores que Afectan el Crecimiento de	
Ovinos Destetados	4
3.1.1. Calidad del forraje	4
3.1.1.1. <i>Hyparrhenia rufa</i>	4
3.1.2. Disponibilidad del Forraje	5
3.1.3. Suplementación	5
3.2 Microflora del Sistema Digestivo	5
3.2.1 Microorganismos Ruminales	5
3.2.2 Microorganismos Instestinales	6
3.3 Probióticos	7
3.4 Probióticos vs. Antibióticos	7
3.5 Probióticos en Producción Animal	8
3.5.1 Microorganismos Utilizados como	
Probióticos.....	8
3.5.2 Mecanismos de Acción de los Probióticos.....	9
3.5.2.1 Colonización.....	9
3.5.2.2 Síntesis de Sustancias	
Antimicrobianas.....	9
3.5.2.3 Inmunomodulación del Hospedero.....	10

3.6	<i>Bacillus</i>	10
3.6.1	Localización de las <i>Bacillus</i>	11
3.6.2	<i>Bacillus licheniformis</i>	11
3.6.3	<i>Bacillus subtilis</i>	11
3.7	Efecto de la Adición de Probióticos sobre el Valor Nutricional de la Dieta	12
3.7.1	Consumo de Alimento.....	12
3.7.2	Digestibilidad.....	12
3.7.3	Ganancia en Peso Diario.....	13
3.8	Efecto de la Adición de Probióticos sobre el Manejo de Residuos Organicos.....	13
3.9	Efecto de la Adición de Probióticos en la Dieta sobre la Salud Animal en Pequeños Rumiantes.....	13
3.9.1	Parásitos Internos	14
3.9.2	Método FAMACHA®	15
3.9.3	Conteo de Huevos en las Heces y Volumen de Células Rojas en la Sangre.....	15
3.10	Enzimas Exógenas: Alternativa para Mejorar la Digestibilidad de los Alimentos	16
4.0	Materiales y Métodos	18
4.1	Animales y Dieta	18
4.2	Detalles del Procedimiento	19
4.3	Peso Vivo y Ganancia en Peso	19
4.4	Variables de Salud.....	20
4.4.1	FAMACHA®	20
4.4.2	Conteo de Huevos en las Heces	21
4.4.3	Volumen de Células Rojas en la Sangre (Hematocrito).....	21
4.5	Consumo y Digestibilidad	21
4.6	Análisis Estadístico	22
5.0	Resultados y Discusión .	24
5.1	Composición Química de los Alimentos Utilizados.....	24
5.2	Consumo Voluntario	24

5.3 Digestibilidad	27
5.4 Ganancia en Peso.....	29
5.5 Conteo de Huevos en Heces.....	33
5.6 Volumen de Células Rojas en la Sangre.....	34
5.7 FAMACHA®	36
6.0 Conclusiones	38
7.0 Recomendaciones	39
8.0 Implicaciones	40
9.0 Referencias	41

LISTA DE CUADROS

	Página
Cuadro 1. Composición química de los alimentos utilizados durante ambos periodos experimentales	24
Cuadro 2. Efecto del suministro de <i>Bacillus subtilis</i> y <i>B. licheniformis</i> sobre el consumo en base seca de corderos alimentados con henos de GTN y de <i>H. rufa</i> (Periodo 1).....	26
Cuadro 3. Efecto residual del suministro de <i>Bacillus subtilis</i> y <i>B. licheniformis</i> sobre el consumo en base seca de corderos alimentados con henos de GTN y de <i>H. rufa</i> (Periodo 2).....	27
Cuadro 4. Requerimientos nutricionales de corderos destetados según el NRC (1985).....	27
Cuadro 5. Efecto de suministro como parte integral de la dieta de <i>Bacillus subtilis</i> y <i>B. licheniformis</i> sobre la digestibilidad en corderos alimentados con Henos de GTN y de <i>H. rufa</i> (Periodo 1).....	28
Cuadro 6. Efecto residual de suministro como parte integral de la dieta de <i>Bacillus subtilis</i> y <i>B. licheniformis</i> sobre la digestibilidad en corderos alimentados con Henos de GTN y de <i>H. rufa</i> (Periodo 2)	28
Cuadro 7. Efecto de suministro como parte integral de la dieta de <i>Bacillus subtilis</i> y <i>B. licheniformis</i> sobre la ganancia en peso total, semanal y diaria de corderos alimentados con henos de GTN y de <i>H. rufa</i> (Periodo 1).....	31
Cuadro 8. Efecto residual de suministro como parte integral de la dieta de <i>Bacillus subtilis</i> y <i>B. licheniformis</i> sobre la ganancia en peso total, semanal y diaria de corderos alimentados con henos de GTN y de <i>H. rufa</i> (Periodo 2).....	32
Cuadro 9. Efecto de suministro como parte integral de la dieta de <i>Bacillus subtilis</i> y <i>B. licheniformis</i> sobre CHH en corderos alimentados con henos de GTN y de <i>H. rufa</i> (Periodo 1).....	34
Cuadro 10. Efecto residual de suministro como parte integral de la dieta de <i>Bacillus subtilis</i> y <i>B. licheniformis</i> sobre CHH en corderos alimentados con henos de GTN y de <i>H. rufa</i> (Periodo 2).....	34
Cuadro 11. Efecto de suministro como parte integral de la dieta de <i>Bacillus subtilis</i> y <i>B. licheniformis</i> sobre hematocrito en corderos alimentados con henos de GTN y de <i>H. rufa</i> (Periodo 1).....	35

Cuadro 12. Efecto residual de suministro como parte integral de la dieta de <i>Bacillus subtilis</i> y <i>B. licheniformis</i> sobre hematocrito en corderos alimentados con henos de GTN y de <i>H. rufa</i> (Periodo 2).....	36
Cuadro 13. Efecto de suministro como parte integral de la dieta de <i>Bacillus subtilis</i> y <i>B. licheniformis</i> sobre nivel de anemia según el método FAMACHA® en corderos alimentados con henos de GTN y de <i>H. rufa</i> (Periodo 1).....	36
Cuadro 14. Efecto residual de suministro como parte integral de la dieta de <i>Bacillus subtilis</i> y <i>B. licheniformis</i> sobre el nivel de anemia según el método FAMACHA® en corderos alimentados con henos de GTN y de <i>H. rufa</i> (Periodo 2).....	37

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Diagrama del itinerario del experimento	18
Figura 2. Jaulas de ovinos con camada y comederos	19
Figura 3. Pesaje de los ovinos	20
Figura 4. Tarjeta de FAMACHA [®] , utilizada para determinar el nivel de anemia.....	21
Figura 5. Bolsas recolectoras de heces para determinar digestibilidad de MS, PB y FDN.....	23
Figura 6. Efecto del suministro como parte integral de la dieta de <i>Bacillus subtilis</i> y <i>B.</i> <i>licheniformis</i> sobre el cambio en PV de corderos alimentados con henos de GTN y de <i>H. rufa</i>	32
Figura 7. Efecto residual del suministro como parte integral de la dieta de <i>Bacillus subtilis</i> y <i>B. licheniformis</i> sobre el cambio en PV de corderos alimentados con henos de GTN y de <i>H. rufa</i>	33

LISTA DE ABREVIATURAS

Bacteria Productora de Acido Láctico	BAL
“Body Condition Score”	BCS
“Colony Forming Units”	CFU
Concentrado Comercial	CC
Consumo Voluntario	CV
Conteo de Huevos en las Heces	CHH
“Crude Protein”	CP
Digestibilidad de Fibra Detergente Neutro	DFDN
Digestibilidad de Materia Seca	DMS
Digestibilidad de Proteína Bruta	DPB
“Direct Feed Microbials”	DFM
Diseño Completamente Aleatorizado	DCA
“Dry Matter”	DM
“Eggs per Gram”	EPG
Energía Digerible	ED
“Fecal Eggs Count”	FEC
Fibra Detergente Acido	FDA
Fibra Detergente Neutro	FDN
Ganancia en Peso Diario	GPD
Gastrointestinal	GI
Gramíneas Tropicales	GT
Heno de <i>Hyparrhenia rufa</i>	HHR
Heno de Gramíneas Tropicales Naturalizadas	HGTN
“Liveweight”	LW
Materia Seca	MS
“National Research Council”	NRC
“Neutral Detergent Fiber”	NDF
“Packed Cell Volume”	PCV
Periodo 1	P1
Periodo 2	P2
Peso Vivo	PV
Proteína Bruta	PB

“Statistical Analysis Systems”

SAS

“Voluntary Consumption”

VC

1.0 INTRODUCCION

Los altos costos de la alimentación han llevado a los productores pecuarios a buscar optimizar sus sistemas de producción. Los forrajes representan el modo de alimentación más económico (Bargo et al., 2003), por lo que suelen constituir una alta proporción de la dieta de pequeños rumiantes (Giraldo et al., 2008). En climas tropicales y subtropicales como el de Puerto Rico y sur este de los Estados Unidos de América, la producción y calidad de los forrajes, principalmente gramíneas, se ven afectadas por condiciones climáticas (sequías) y de manejo (fertilización). El aumento en los costos de alimentación (i.e. granos) y el interés que ha despertado la crianza de pequeños rumiantes en los últimos años, ha agudizado la necesidad de mejorar la utilización de los forrajes de mediana a baja calidad, lo que a su vez ha guiado a los investigadores a buscar prácticas aptas para tal propósito (Burke et al., 2007). El mejoramiento del valor nutritivo de estos forrajes permite aumentar la productividad de los animales (Giraldo et al., 2008). Además, ha surgido el problema que terrenos cultivables han quedado invadidos por especies invasoras como la maleza *Hyparrhenia rufa* (hierba Jaragua), la cual compite con otros cultivos presentes (Rivera, 2012). Una alternativa potencial para el control biológico de *H. rufa* es la inclusión de esta hierba en la dieta de pequeños rumiantes (Rivera, 2012).

Se ha convertido en práctica común el uso de diversos aditivos en la alimentación animal. Los antibióticos y otros estimulantes de crecimiento se utilizan rutinariamente en dietas para monogástricos y también en especies rumiantes como vacunos, ovinos y caprinos. La preocupación sobre el uso excesivo de éstos con efectos secundarios negativos ha llevado a los investigadores a estudiar otros tipos de aditivos dietéticos como los probióticos (Laborde, 2008). Existe un genuino interés actualmente por estudiar el efecto de diversos probióticos sobre la salud y desarrollo de los animales (Krehbiel et al., 2003; Hong et al., 2005), si bien esta idea no es nueva. La adición de probióticos a la dieta ha sido estudiado desde el año 1908, cuando por primera vez Metchnikoff propuso el consumo de probióticos para prevenir enfermedades causadas por enteropatógenos (Krehbiel et al., 2003; Laborde, 2008). Ya para el año 1920 en Japón existían alimentos que incluían probióticos (Krehbiel et al., 2003; Musa et al., 2009). En los últimos años se ha intensificado el estudio de los probióticos en las dietas de animales domésticos de producción para mejorar su salud y rendimiento (i.e. porcinos, aves, rumiantes). Bacterias del género *Bacillus* han sido uno de los microorganismos más utilizados como probióticos en la dieta de operaciones pecuarias (Musa et al., 2009). Este género tiene la capacidad de producir esporas que le permiten resistir

condiciones ambientales adversas. Además, ha demostrado la capacidad de producir proteínas cristalinas que resultan tóxicas para nemátodos parasíticos, lo que promete ser una alternativa para su control (Wei et al., 2003). Sin embargo, los efectos positivos de probióticos dietéticos sobre el rendimiento productivo y salud ha sido estudiado mucho menos en pequeños rumiantes que en porcinos y aves (Kritas et al., 2006). Se precisa más evaluación de la adición de probióticos en la dieta de ovinos en crecimiento y su efecto sobre la salud y desempeño productivo. Así mismo, el efecto residual de la utilización de estos aditivos biológicos en dietas para pequeños rumiantes debe ser investigado.

2.0 OBJETIVOS

Evaluar el efecto de la adición dietética de un probiótico aportador de cepas de *Bacillus subtilis* y *Bacillus licheniformis* sobre el consumo y digestibilidad de la dieta basada en henos de baja calidad sobre el crecimiento y salud en corderos

Determinar el efecto residual de la inclusión del probiótico sobre las mismas variables.

Evaluar la inclusión de la invasora *Hyparrhenia rufa* en forma de heno en la dieta de corderos destetados.

3.0 REVISION DE LITERATURA

3.1 Factores que Afectan el Crecimiento de Ovinos Destetados

En climas tropicales la pobre calidad y estacionalidad del forraje disponible con que se alimentan los rumiantes destetados suele ser uno de los factores que afectan su crecimiento, debido al consumo inadecuado de nutrientes digeribles (Ramos et al., 1998). Otro factor negativo es la resistencia que han desarrollado algunos parásitos gastrointestinales a los diferentes tratamientos antihelmínticos usados con los ovinos y caprinos (Whitley et al., 2009b). Además, las condiciones climáticas severas de temperatura, radiación solar, humedad y viento pueden ser factores adversos adicionales al desarrollo de pequeños rumiantes (Acero, 2007).

3.1.1 Calidad del Forraje

La calidad del forraje disponible para el consumo animal en climas tropicales puede verse afectada por la especie, fertilidad del suelo, así como la edad o madurez de la planta (Más y García, 2006). Las gramíneas tropicales (GT) más utilizadas en Puerto Rico incluyen las especies estrella (*Cynodon nlemfuensis*), pangola (*Digitaria decumbens*), merker (*Pennisetum purpureum*), buffel (*Cenchrus ciliaris*), signal (*Brachiaria brizantha*) y guinea (*Megathyrsus maximus*) (Más y García, 2006). Existe una relación inversa entre edad de cosecha y calidad de las GT, ya que al madurarse estas plantas se lignifican y se vuelven menos digeribles en el sistema digestivo de los rumiantes. En áreas tropicales las gramíneas presentan un bajo contenido y digestibilidad de nitrógeno mayormente en épocas seca (Ramos et al., 1998). Por contraste, en el noreste de Estados Unidos los forrajes que se describen como de buena calidad pueden tener una composición química de 18-25% de PB y 40-55% de FDN (Bargo et al., 2003).

3.1.1.1 *Hyparrhenia rufa*

En algunas regiones de la isla se ha propagado la hierba invasiva *Hyparrhenia rufa* conocida como “jaragua” o “cola de caballo”. Esta hierba se caracteriza por su agresividad comparada con muchas otras GT y ha colonizado diferentes áreas de la isla mayormente fincas abandonadas, orillas de carreteras y áreas de cultivos (Más y García, 2006). Nutricionalmente no es de alta calidad ya que contiene una alta proporción de paredes celulares (aprox. 78%), las cuales contienen mucha lignina. Frente al problema de la invasión de esta especie se ha evaluado recientemente métodos químicos y de control biológico, incluyendo el uso de hongos fitopatógenos (Rivera, 2012), el pastoreo por pequeños rumiantes (Martínez et al., 2013) y su uso como heno para alimentar caprinos (Rivera, 2012).

Bajo condiciones de pastoreo se observó un mayor consumo de esta especie invasora por ganado caprino que ovino (Martínez et al., 2013). Al evaluar el uso de esta hierba en forma de heno para alimentar caprinos se demostró que es posible su inclusión en la dieta en niveles de hasta 10% del total de forraje ofrecido, sin afectar el consumo y digestibilidad (Rivera, 2012).

3.1.2 Disponibilidad del Forraje

En diversos países la disponibilidad de tierras para la producción de forrajes ha mermado rápidamente en los últimos años principalmente por la presión poblacional y el uso de terrenos agrícolas para urbanización y desarrollo industrial (Salem y Smith, 2008). Las empresas pecuarias, especialmente las de producción extensiva, que utilizan el pastoreo como la principal fuente alimentaria a un bajo costo, son las más impactadas (Bargo et al., 2003). La ganadería extensiva es de modesta productividad por tener que usar cargas animales bajas (Salem y Smith, 2008), si bien en producciones ovinas y caprinas el requerimiento de área superficial por unidad animal es sólo una fracción de lo que es para ganado vacuno.

3.1.3 Suplementación

Una práctica común en sistemas extensivos de pastoreo es suplementar la dieta con alimentos altos aportadores de energía o proteína, especialmente en regiones tropicales donde las gramíneas presentan bajo contenido de estos nutrientes. Durante las épocas secas se utilizan diversas estrategias de suplementación para sostener la producción animal (Aranda et al., 2001). Según Bargo et al. (2003), una combinación de pastos y suplementación con granos u otras fuentes alimentarias es necesaria. Además, animales en crecimiento son más exigentes en sus requerimientos nutricionales de lo que aportan, en muchos casos, dietas basadas en forrajes solamente. El objetivo principal de suplementar la dieta es aumentar el consumo de materia seca (MS) y de energía digerible (ED) (Bargo et al., 2003). Suplementar para corregir el bajo contenido de proteína en las GT de baja calidad puede aumentar el consumo y la digestibilidad de la dieta (Salem y Smith, 2008).

3.2 Microflora del Sistema Digestivo

Los microorganismos vivos presentes en los diferentes sitios del tracto gastrointestinal (GI) de los herbívoros les permite utilizar el material vegetativo como fuente de energía (Dehority, 2002). Los herbívoros se pueden dividir en aquellos que llevan a cabo fermentación pre gástrica y aquellos cuya fermentación es post gástrica. A lo largo de la evolución, los rumiantes han desarrollado un estomago con múltiples compartimientos que facilita la fermentación microbiana pre gástrica (Dehority, 2002).

3.2.1 Microorganismos Ruminales

La microflora y su actividad ruminal pueden ser alteradas por cambios en pH, tipo de dieta y disponibilidad de nutrientes presentes en la misma, entre otros factores. Por ejemplo, la degradación de celulosa en el rumen por parte de las bacterias celulíticas se inhibe cuando el pH del contenido ruminal se encuentra por debajo de 6 (Russell y Wilson, 1996). La cantidad de bacterias presentes en el contenido del rumen es de aproximadamente 10^{10} a 10^{11} células por gramo, con representación de aproximadamente 250 especies diferentes, mientras los protozoarios presentes son menos numerosos con poblaciones de entre 10^3 a 10^6 células por gramo y 28 especies diferentes (Peede, 1997). La sobrevivencia de algunos microorganismos en el rumen no es de larga duración (Wells y Russell, 1996). En un experimento se identificaron 83, 62 y 370 cepas de bacterias diferentes en animales alimentados con concentrado, con heno de baja calidad y con una mezcla de harina de pescado, miel y urea, respectivamente (Elías, 2004). Las bacterias encontradas se mostraron variables en cuanto a morfología (cocos o bacilos) y reacción a tinción Gram (negativa o positiva) y las proporciones de éstas se vieron afectadas por la dieta. Entre los protozoarios que se han encontrado en el rumen de novillos, el más predominante es *Entodinium* (Ghorbani et al., 2002). La población total de protozoarios tiende a disminuir con dietas altas en granos y al contrario aumentar con la suplementación de *Propionibacterium*. Este último efecto puede ayudar a prevenir la acidosis ya que *Entodinium* juega un papel importante en la utilización de ácido láctico (Ghorbani et al., 2002).

3.2.2 Microorganismos Intestinales

En el intestino es posible encontrar poblaciones bacterianas que algunas veces afectan la salud animal como cepas de *Escherichia coli* y *Salmonella*. Se ha encontrado poblaciones de bacterias intestinales de 4×10^3 células/g, con un total de 48 diferentes cepas, siendo la mayoría Gram positiva (Nicoletti et al., 1984). En un estudio, el número de células viables presentes bajo condiciones anaeróbicas en la digesta del intestino varió de 5×10^4 hasta 7×10^6 por gramo, mientras que en el tejido intestinal los límites fueron entre 2×10^2 hasta 4×10^4 ; bajo condiciones aeróbicas los números correspondientes fueron de 10^4 a 5×10^6 y de 5×10^4 a 6×10^4 células/g en la digesta y el tejido (Nicoletti et al., 1984). Se ha identificado unas 50 cepas de las encontradas entre el tejido y la digesta, siendo la mayoría estreptococos y morfológicamente similares a *Propionibacterium* (Nicoletti et al., 1984). La mayoría de las bacterias presentes en la digesta intestinal no crecen en condiciones aeróbicas, en cambio las asociadas al tejido intestinal crecen bajo ambas condiciones, por lo que se puede concluir que pequeñas cantidades de oxígeno pueden pasar a través de los capilares y llegar al tejido epitelial (Nicoletti et al., 1984).

3.3 Probióticos

La utilización de probióticos en la dieta para fortalecer la alimentación tiene una larga historia, pero ha aumentado el interés por su estudio recientemente (Hong et al., 2005). Un probiótico puede ser definido de varias maneras, como por ejemplo, microorganismos disponibles en suficiente cantidad para alterar la microflora del tracto digestivo del animal hospedero (Kritas et al., 2006). Otros investigadores lo definen como microorganismos vivos que al consumirse le brindan algún beneficio al hospedero por mejorar el balance de microorganismos en el intestino (Krehbiel et al., 2003; Hong et al., 2005; Taras et al., 2006); o bien se describa como la alimentación directa de microorganismos (Ghorbani et al., 2002). Otro enfoque es definir este concepto como el uso de cultivos vivos en la dieta para sustituir la inclusión de antibióticos y otros químicos (Musa et al., 2009). A nivel comercial la Administración de Drogas y Alimentos (Food and Drug Administration; FDA, en inglés) obliga a los fabricantes de estos productos a llamarlos “Direct Feed Microbials” (DFM) y los mismos deben cumplir con los requisitos de ser específicos para un hospedero dado, resistir destrucción en las regiones del tracto GI, mostrar estabilidad genética y ser seguros o no patógenos (Krehbiel et al., 2003).

Los probióticos no solamente se utilizan en animales de producción pecuaria como aves, porcinos, peces, bovinos y conejos, sino también en la alimentación humana. Incluso, productos para consumo humano conteniendo probióticos del género *Lactobacillus* se mercadearon tan temprano como la década del 1920 en Japón (Musa et al., 2009).

3.4 Probiótico vs. Antibióticos

El empleo excesivo de antibióticos de importancia para usos médicos para fines no terapéuticos en las operaciones pecuarias ha permitido que algunas bacterias desarrollen resistencia a los mismos. Esto puede representar un riesgo tanto a la salud animal como a la humana y por tal razón se ha considerado la eliminación o sustitución de antibióticos usados en la producción animal (Bhandari et al., 2008). Los probióticos podrían representar la alternativa a tal uso de antibióticos (Fleige et al., 2009). Aunque, no se pretende que los probióticos sustituyan a los antibióticos para curar enfermedades severas, sí podrían mejorar la eficiencia de la alimentación animal y promover la salud animal.

La diarrea es uno de los problemas de salud que más afecta el crecimiento post destete de diversas especies animales y es comúnmente tratada con antibióticos (Al-Saiady, 2010). Además de la resistencia que pueden adquirir las bacterias a los antibióticos, sustituir el uso de estos por el uso de probióticos reduciría el riesgo de contaminación con antibióticos en productos para consumo humano (Bhandari et al., 2008).

3.5 Probióticos en Producción Animal

Los probióticos han sido menos estudiados en los rumiantes que en los no rumiantes mamíferos y aviares. Sin embargo, experimentos en becerros lactantes, corderos y toretes para engorde indican que, tal como los antibióticos, los probióticos mejoran el desempeño productivo y reducen la incidencia de diarrea (Kritas et al., 2006). El concepto original de añadir probióticos a la dieta del ganado vacuno era principalmente obtener efectos beneficiosos post ruminales mediante el establecimiento de una microflora deseable (Ghorbani et al., 2002; Krehbiel et al., 2003). En otros estudios relacionados, la suplementación con probióticos en caprinos para carne ha disminuido las poblaciones de *E. coli* y *Salmonella* en las heces (Whitley et al., 2009a).

Existen indicaciones de que los probióticos pueden producir beneficios ruminales también (Krehbiel et al., 2003). Uno de los desordenes ruminales más comunes es la acidosis. Para lograr el efecto deseado se precisan bacterias capaces de competir con o complementar la actividad de las bacterias productoras de ácido láctico en el rumen y así disminuir la concentración de este ácido y prevenir o aminorar la acidosis. Por ejemplo, los bovinos que consumen dietas bien altas en granos experimentan con frecuencia acidosis ruminal subaguda, pero si se añade bacterias utilizadoras de ácido láctico, como *Propionibacterium* o una combinación de ésta con otras cepas, se puede evitar esta condición (Ghorbani et al., 2002). *Megasphaera elsdenii* es otra especie que ayuda a prevenir la acumulación de ácido láctico y reducir la incidencia de acidosis (Krehbiel et al., 2003).

3.5.1 Microorganismos Utilizados Como Probióticos

Existen diferentes microorganismos que se prestan para ser utilizados como probióticos los cuales incluyen bacterias, levaduras y hongos. La efectividad relativa de uno y otro depende de la especie animal a la que se destina. En aves, porcinos y otros no rumiantes han resultado más efectivos los probióticos conteniendo bacterias, mientras que en rumiantes adultos las levaduras y los hongos son preferibles (Musa et al., 2009). Entre las bacterias más utilizadas como probióticos se hallan *Lactobacillus acidophilus* y *L. casei*, aunque otras especies pertenecientes a los géneros *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Bacillus*, *Clostridium* y *Bifidobacterium* así como *E. coli* son comúnmente utilizadas (Krehbiel et al., 2003; Musa et al., 2009). Muchos de los probióticos utilizados hoy día constan de bacterias formadoras de esporas como las del género *Bacillus* (Hong et al., 2005). Especies del género *Lactobacillus* pueden sobrevivir el paso por el sistema digestivo y adherirse a la pared del intestino e incluso colonizarla lo que resulta beneficioso a la salud animal y humana (Al-Saiady, 2010).

Las levaduras y hongos más utilizadas en probióticos para rumiantes son *Saccharomyces cerevisiae* y *Aspergillus oryzae* (Laborde, 2008). Ciertas combinaciones de diferentes especies de microorganismos pueden mostrar efectos sinérgicos en beneficio por ejemplo de la ganancia en peso diario (GPD) y la eficiencia de conversión alimentaria en caprinos (Whitley et al., 2009a). El uso de productos conteniendo levaduras (*Aspergillus oryzae*), bacterias productoras de ácido láctico (*L. acidophilus* y *E. faecium*), y enzimas (amilasas y proteasas) como probióticos ha mejorado la GPD y la eficiencia de conversión en caprinos (Whitley et al., 2009a).

3.5.2 Mecanismo de Acción de los Probióticos

Los probióticos pueden trabajar en el sistema GI de diferentes maneras. Pueden competir por las fuentes de nutrientes o por lugares de colonización con los patógenos; pueden inhibir la producción de toxinas de otras bacterias; pueden sintetizar sustancias antimicrobianas; y pueden inmunomodular al hospedero (Krehbiel et al., 2003; Musa et al., 2009). Además, pueden promover la proliferación de otros microorganismo beneficiosos y restringir la adhesión de patógenos en la mucosa intestinal. Aunque se conoce la existencia de estos mecanismo, la acción exacta de muchos de estos probióticos utilizados en la alimentación animal queda por delucidarse y por ello se necesita mayor estudio sobre los diferentes mecanismos de acción (Krehbiel et al., 2003).

3.5.2.1 Colonización

Para que los probióticos puedan ejercer un efecto beneficioso sobre el animal hospedero se requieren varias condiciones, pero la de mayor importancia es la capacidad de los microorganismo de adherirse a las paredes y colonizar el tracto GI (Krehbiel et al., 2003). La mayoría de la microflora se encuentra adherida a la mucosa epitelial del tracto o a las partículas de la digesta y las esporas de diferentes cepas pueden diferir en sus mecanismos de adhesión, lo que puede afectar el tiempo de su paso a través del tracto (Hong et al., 2005). También se requiere que haya disponible sustratos específicos utilizables por las bacterias para promover la sobrevivencia de las usadas como probióticos; estos sustratos pueden estar presentes naturalmente o ser añadidos a la dieta (Fleige et al., 2009). En ciertos experimentos se observó que una sola dosis de esporas de *B. subtilis* persistieron en forma viable hasta 36 días en el intestino de aves y 15 días en ratones (Hong et al., 2005).

3.5.2.2 Síntesis de Sustancias Antimicrobianas

El principal mecanismo que se asocia a la inhibición de microorganismos patógenos que causan infecciones en el tracto GI es la producción de sustancias antimicrobianas (Hong et al., 2005). Los compuestos antimicrobianos sintetizados por los microorganismos

probióticos incluyen ácido láctico, ácido acético, peróxido de hidrogeno, β -hidroxypropionaldehído y péptidos, entre otros (Al-Saiady, 2010). Otras sustancias antimicrobianas incluyen bacteriocinas, sustancias inhibidoras (subtilisina) y antibióticos (surfactina). Hay productos comerciales que contienen cepas de *B. subtilis* y *B. licheniformis* productoras de antibióticos activos contra *Helicobacter pylori* llamados aminocoumactinas, también pueden actuar en contra de *S. Aureus*, *E. faecium*, *Camphylobacter jejuni*, *Candida albicans* y *B. clausi* y sus antibióticos tienen actividad en contra de levaduras en el intestino (Hong et al., 2005). La producción de estos compuestos por los probióticos les permite competir con los microorganismos intestinales (Al-Saiady, 2010).

3.5.2.3 Inmunomodulación del Hospedero

Un mejoramiento en respuesta del sistema inmune innato y adquirido de un animal puede resultar del uso de probióticos. Dicha inmunoregulación puede reducir la incidencia de enfermedades y ocurrir de varias formas (Fleige et al., 2009). Por un lado la presencia del probiótico puede aumentar la fagocitosis y la actividad de las células asesinas del cuerpo (linfocitos); por otro lado puede aumentar la producción de inmunoglobulinas mejorando así la respuesta inmune (Krehbiel et al., 2003). La producción de inmunoglobulinas es promovida por las citoquinas. Citoquinas inflamatorias pueden interaccionar con las células epiteliales del intestino y reducir la síntesis de moléculas que tienen efectos inflamatorios (Fleige et al., 2009). Aunque los mecanismo de acción no están muy claros, probablemente una combinación de los efectos de la adhesión, colonización y estimulación del sistema inmune ocurre para favorecer la salud en los animales que consumen probióticos (Krehbiel et al., 2003).

3.6 Bacillus

Las bacterias del género *Bacillus* producen esporas lo que les permite resistir condiciones ambientales adversas que pueden incluir la ausencia de sustratos durante el trayecto por el tracto GI, para luego germinar o eclosionar y proliferar bajo condiciones favorables y al completar su ciclo de vida llegar a la re-esporulación nuevamente (Hong et al., 2005). Entre las especies de este género se destacan *B. subtilis*, *B. cereus*, *B. licheniformis*, *B. clausii*, *B. pumilus* y *B. coagulans*. Estas especies son Gram-positivas y normalmente se encuentran en el suelo, en el agua y en el aire. Son de posible uso para inhibir infección GI en los animales por mecanismos como síntesis de sustancias antimicrobianas e inmunomodulación (Hong et al., 2005). Por otro lado, se observó que nemátodos parasíticos presentes en el intestino de ratas presentaron susceptibilidad a las proteínas cristalinas producidas por las bacterias *Bacillus thuringiensis* (Wei et al., 2003).

Estas bacterias no se consideran como parte natural de la microflora GI (alóctonas), pero irónicamente su presencia puede proveer algún beneficio.

Los *Bacillus* pueden servir para la prevención de desordenes o infecciones y también como suplementos para restablecer un buen balance de la microflora en el tracto GI. Varias empresas en países asiáticos como China, India, Corea y Japón han desarrollado productos de esta índole (Hong et al., 2005).

Hay otras especies del mismo género que son patógenos, notoriamente *B. anthracis* y *B. cereus* que atacan humanos y animales y también se asocian con la intoxicación alimentaria.

3.6.1 Localización de las *Bacillus*

Aunque no se consideran bacterias autóctonas se ha encontrado bacterias del género *Bacillus* en el sistema GI animal (Hong et al., 2005). Este hallazgo puede deberse a que cepas presentes en el suelo y agua han sido ingeridas por los animales. Presumiblemente las esporas consumidas pueden atravesar todo el sistema GI sin alterarse ya que las esporas son resistentes a la acción enzimática del estómago y el intestino. La mayoría de las bacterias del género *Bacillus* son aeróbicas facultativas y teóricamente no podrían proliferarse en ambientes anaeróbicos como el GI (Hong et al., 2005). Sin embargo, se ha observado que bajo condiciones apropiadas ciertas bacterias aeróbicas facultativas sí se pueden proliferar en ambientes anaeróbicos pero para ello deben ser capaces de utilizar nitrato o nitrito (Hong et al., 2005). Así mismo, en estudios in vitro se ha encontrado que algunas cepas son tolerantes a las sales biliares pero sensitivas a los jugos gástricos mientras otras son resistentes a ambos (Hong et al., 2005). Aunque las bacterias de este género no son autóctonas en el sistema GI y son anaeróbicas facultativas, pueden tolerar ambientes anaeróbicos y por lo tanto ser utilizadas como probióticos.

3.6.2 *Bacillus licheniformis*

Esta especie crece a pH entre 5 y 10 y es utilizada en fermentaciones industriales ya que produce varias enzimas como amilasas, proteasas y altos niveles de celulasas. Estas bacterias son reductoras de nitratos y pueden crecer en soluciones salinas a concentraciones hasta de 3.5%. Por el lado negativo, existen reportes que asocian esta especie de bacteria con abortos esporádicos en el ganado que ocurren tarde en la gestación (Scott, 2008). No hay un mecanismo exacto asociado, sin embargo para que esto ocurra, el microorganismo debe tener un efecto sobre la regresión del cuerpo lúteo. Además, controlar esto es muy dificultoso ya que el microorganismo se encuentra en el ambiente.

3.6.3 *Bacillus subtilis*

Varias especies del género *Bacillus* como *B. subtilis*, *B. licheniformis* y *B. pumilis* están altamente relacionadas y es difícil distinguir entre ellas. La especie *B. subtilis* puede crecer a pH entre los amplios límites de 4.5 y 10 y es capaz de producir altos niveles de enzimas como amilasas, proteasas, lipasas, celulasas y xilanasas. También produce compuestos antifúngicos. Tanto *B. licheniformis* como *B. subtilis* son bacterias productoras de ácido láctico. Ciertas cepas producen sustancias con actividad antiviral y contra tumores, otras cepas tienen propiedades de probióticos, al estimular el sistema inmune y actividad contra el cáncer (Hong et al., 2005).

3.7 Efecto de la Adición de Probióticos Sobre el Valor Nutricional de la Dieta

3.7.1 Consumo de Alimento

Aunque un aumento en la tasa de ganancia en el peso vivo (PV) se relaciona generalmente con un mayor consumo de MS, al investigar el efecto de adicionar probióticos a la dieta sobre su consumo voluntario no se ha verificado una relación positiva entre estos dos factores (Krehbiel et al., 2003; Whitley et al., 2009a). Con la adición de probióticos en la dieta se puede ver un efecto positivo sobre el PV sin afectar el consumo de MS. Whitley et al., (2009a), realizaron cuatro experimentos con ganado caprino para evaluar la adición de probiótico en la dieta y en tres de ellos no observaron un aumento en el consumo de MS. Krehbiel et al. (2003) tampoco observaron un mayor consumo de MS en becerros alimentados con un probiótico. Posiblemente este patrón de resultados puede reflejar una mejor eficiencia de utilización de los nutrientes dietéticos por parte de los animales alimentados con el probiótico.

3.7.2 Digestibilidad

En animales rumiantes la digestión de carbohidratos, proteínas y lípidos y la síntesis de aminoácidos y vitaminas son en gran parte funciones de los microorganismos presentes en el rumen (Peede, 1997). Esto imparte a los rumiantes la capacidad de digerir y utilizar la fracción fibrosa de los alimentos que ninguna enzima producida por los mamíferos es capaz de degradar. Una población óptima de bacterias ruminales promueve la digestión de la MS y mejora el metabolismo de los compuestos nitrogenados (Salem y Smith, 2008). Muchas veces las enzimas producidas por los microorganismos utilizados como probióticos estimulan el crecimiento de otras bacterias en el rumen y la actividad fermentativa, también ayudan a mantener un pH óptimo y aumentar el flujo saliente del rumen con efectos positivos sobre la digestibilidad (Laborde, 2008). Sin embargo, en las investigaciones realizadas no se obtiene siempre estos efectos positivos. Por ejemplo Whitley et al. (2009 a), no observaron mejor digestibilidad de la MS, materia orgánica, fibra detergente neutro (FDN), fibra detergente

ácido (FDA) y proteína bruta (PB) de la dieta en caprinos suplementados con un probiótico que contenía una mezcla de diferentes microorganismos.

3.7.3 Ganancia en Peso Diario

Krehbiel et al., (2003) verificaron un efecto cuadrático sobre la GPD de terneros alimentados con tres dosis escalonadas de un probiótico conteniendo *L. acidophilus*. En uno de cuatro experimentos donde se evaluó la GPD de caprinos, se observó una GPD mayor en aquellos caprinos que consumieron el probiótico que en los animales testigos (Whitley et al., 2009a). Sin embargo, el PV en los caprinos que consumieron el probiótico no se vio afectado en los otros tres experimentos (Whitley et al., 2009a). También se reportó que becerros alimentados con bacteria ácido láctico (BAL) no obtuvieron una GPD significativamente mayor que los becerros testigos (Krehbiel et al., 2003). En otro estudio, los PV de becerras que consumieron probióticos conteniendo *L. acidophilus* o una combinación de *L. acidophilus* y *L. plantarum* superaron el PV de animales sin recibir el probiótico (Al-Saiady, 2010). Otros experimentos relacionados han mostrado inconsistencia y variación entre especies animales y entre etapas de crecimiento al utilizar probióticos dietéticos en rumiantes (Whitley et al., 2009 a).

3.8 Efecto de la Adición de Probióticos sobre el Manejo de Residuos Orgánicos

Los problemas relacionados con el manejo de estiércol en las operaciones pecuarias incluyen los malos olores que se generan, la acumulación excesiva de sólidos orgánicos en los corrales, la formación de amoníaco y la proliferación de moscas. Los malos olores y la acumulación de sólidos son el resultado de una inadecuada descomposición microbiana del estiércol. Muchas dietas formuladas para los animales de finca contienen antibióticos que pueden afectar negativamente el crecimiento bacteriano necesario para la descomposición de los desperdicios (Davis et al., 2008). La adición en la dieta de bacterias del género *Bacillus* seleccionadas para acelerar la descomposición del estiércol podría ser un método efectivo según un experimento realizado por Davis et al. (2008). Luego de consumir semejante dieta los cerdos en crecimiento mejoraron su eficiencia de conversión alimentaria y se redujo el tiempo requerido para descomponer el estiércol. Las bacterias seleccionadas del género *Bacillus* son ideales para este propósito ya que producen enzimas que ayudan a descomponer el estiércol y sus esporas sobreviven la actividad enzimática, la acidez y la alcalinidad y el calor del sistema digestivo (Hong et al., 2005).

3.9 Efecto de la Adición de Probióticos en la Dieta sobre la Salud en Pequeños Rumiantes

Las consecuencias para la salud animal de la utilización de probióticos ha sido evaluado en vacunos, no rumiantes mamíferos y aves (Kritas et al., 2006). Sin embargo, su efecto sobre la salud de los caprinos y ovinos ha recibido menos atención.

3.9.1 Parásitos Internos

En ovinos, el nemátodo parasítico de mayor importancia económica es *Haemonchus contortus* (Alba et al., 2010; Leask et al., 2012). Este nemátodo puede estar presente en forma viable en las pasturas durante varias semanas, principalmente en lugares de clima húmedo y lluvioso (Burke et al., 2009). Los huevos de este nemátodo presentes en las heces fecales caen al suelo en las pasturas, donde en condiciones ideales se desarrolla la larva que puede moverse a diferentes partes de la planta y ser consumida por el animal nuevamente. La etapa adulta de este nemátodo se encuentra en el tracto GI de los pequeños rumiantes, particularmente en el abomaso (Mandal y Sharma, 2008). De hecho, se ha verificado que en el abomaso de corderos, la única especie parasítica presente es *H. contortus* (Burke et al., 2009). La etapa adulta es capaz de producir miles de huevos diariamente y cada nemátodo individual puede consumir hasta 200 µl de sangre (Acero, 2007). El mismo afecta tanto animales jóvenes como adultos siendo los recién destetados los más susceptibles (Burke et al., 2009). Un control adecuado para evitar infecciones parasíticas es esencial para mejorar la salud y productividad de los animales luego del destete (Mandonnet et al., 2005). El principal efecto de *H. contortus* es causar anemia en los animales al alimentarse de la sangre, lo que reduce el vigor y productividad y puede causar hasta la muerte (Burke et al., 2007). Otros síntomas de parasitismo incluyen retraso en el crecimiento, baja eficiencia de conversión alimenticia y aspecto desmejorado del animal (Alba et al., 2010). Otros nemátodos gastrointestinales además de *H. contortus*, como *Strongyloides*, *Trichuris* y *Oesophagostomum*, también tienen un impacto económico negativo en la crianza de ovinos (Mandal y Sharma, 2008). En otros rumiantes como becerras, especies de nemátodos de los géneros *Cooperia* y *Ostertagia* son los más abundantes y en menor grado especies de *Trichostrongylus* y *Haemonchus* (Yaswinsky et al., 2009).

El control convencional de *H. contortus* depende de la utilización de antiparasitarios o compuestos químicos aunque sería preferible el controlar de forma biológica u orgánica (Burke et al., 2009). El control del nemátodo mediante prácticas orgánicas y sin la utilización de compuestos químicos es dificultoso pero se puede lograr utilizando métodos de pastoreo rotacional sistémico, razas de animales resistentes como la Katahdin y una buena nutrición (Burke et al., 2009). Asegurar una buena nutrición para ayudar al control de nemátodos parasíticos dependería de la suplementación cuando la dieta basal es de forrajes de baja

calidad. El pastoreo rotacional efectivo, en lo que respecta a la nutrición, dependería del consumo rápido de las plantas de cada predio en etapa inmadura (forrajes cortos) para que sean más nutritivas, pero esto a su vez expondría los animales a una mayor infección de los nemátodos en su etapa larval debido al consumo más cerca del suelo (Burke et al., 2009).

La utilización de otros tipos de forrajes como leguminosas con altas concentraciones de taninos se ha postulado como otra alternativa (Whitley et al., 2009b). Sin embargo, el hecho que la implementación de métodos orgánicos o biológicos es tan complicada, contribuye a la utilización descontrolada de antihelmínticos que lleva bastante tiempo vigente. La utilización excesiva y frecuente de los mismos antihelmínticos como tratamiento antiparasítico ha permitido que los nemátodos GI desarrollen resistencia en sus poblaciones (Burke et al., 2007; 2009; Alba et al., 2010; Leask et al., 2012). El problema de la resistencia a los antihelmínticos ha impactado las explotaciones de pequeños rumiantes en regiones de todo el mundo (Mandal y Sharma, 2008; Whitley et al., 2009b). Países en África, Asia, las Américas e incluso Puerto Rico son afectados actualmente.

3.9.2 Método FAMACHA®

FAMACHA® es un sistema práctico utilizado para clasificar la severidad de anemia en pequeños rumiantes, que se desarrolló en Sur África como una herramienta para manejar eficientemente la haemoncosis (Leask et al., 2012). El mismo consiste en asignar un nivel de anemia al animal de acuerdo con el color o la intensidad en la coloración de la membrana ocular. Este sistema se utiliza en diferentes partes del mundo incluyendo Puerto Rico (Burke et al., 2007). Su utilización en los hatos de ovinos y caprinos es de gran ayuda para mejorar la eficiencia de los tratamientos contra infecciones de *Haemonchus contortus* ya que permite reducir los costos por concepto de los antelmínticos que no se aplican a animales que no los necesiten (Burke et al., 2007; Leask et al., 2012). Experimentos recientes han demostrado que no hay diferencias significativas en la productividad animal entre la utilización del sistema FAMACHA® vs. rutinas convencionales en que se desparasita el rebaño independientemente del nivel de anemia en animales individuales (Leask et al., 2012).

3.9.3 Conteo de Huevos en las Heces y Volumen de Células Rojas en la Sangre

El “Packed Cell Volume” (PCV) o hematocrito y el conteo de huevos en las heces (CHH) (“Fecal Eggs Count”; FEC) se correlacionan con la coloración de la membrana ocular (Burke et al., 2007). Whitley et al. (2009b), observaron una reducción en la población de nemátodos en caprinos tratadas con taninos a la par con una reducción en CHH y un aumento en hematocrito. En otro estudio relacionado, se observó una lógica correlación negativa entre

las variables hematocrito y la escala del método FAMACHA® en corderos inoculados con larvas (etapa L3) de *H. contortus* que mostraron un mayor grado de anemia y una disminución en el hematocrito comparado con los animales testigos (Alba et al., 2010). En ovinos, al aumentar el CHH el nivel de anemia según FAMACHA® también aumenta (Burke et al., 2007). El hematocrito se puede utilizar para detectar resultados falsos negativos cuando se compara con la coloración de la membrana ocular (Burke et al., 2007). Actualmente Burke et al. (2009) recomiendan desparasitar cuando el hematocrito sea $\leq 20\%$ y el CHH sea $> 5,000$ huevos/g. Otros criterios más liberales permiten no desparasitar hasta que el hematocrito sea $\leq 15\%$, aunque así se tolera cierto grado de anemia si se considera a 19% como el punto determinante (Burke et al., 2007). La condición corporal (“Body Condition Score”; BCS), tiene relación con el hematocrito y CHH pero no es en sí un buen indicador de anemia (Burke et al., 2007). El peso corporal tampoco es un buen indicador del estado de infección de nemátodos porque si una infección con *H. contortus* se desarrolla rápidamente no hay tiempo suficiente para que el animal la muestre por una reducción tan rápida en peso y condición corporal (Burke et al., 2007).

3.10 Enzimas Exógenas: Alternativa para Mejorar la Digestibilidad de los Alimentos

Una de las grandes limitantes en la alimentación de los ovinos es el uso de forrajes de baja degradabilidad en el sistema GI. Se ha investigado el uso de enzimas fibrolíticas producidas por microorganismos para ayudar a solucionar este problema. Algunos investigadores justifican la utilización de enzimas fibrolíticas exógenas capaces de degradar fibra con el potencial de mejorar la utilización de esta fracción de los forrajes (Beauchemin et al., 2003; Giraldo et al., 2008). La celulosa y la hemicelulosa son los principales carbohidratos estructurales presentes en los forrajes. Las enzimas celulasas, hemicelulasas y xilanasas que se obtienen de bacterias y hongos son las más usadas en rumiantes con miras a aumentar la digestibilidad de la MS y la fibra en los alimentos (Beauchemin et al., 2003). En la naturaleza existen endocelulasas y exocelulasas capaces de hidrolizar la celulosa. Otras enzimas como amilasas, proteasas y pectinasas producidas por los microbios son de posible uso en la alimentación animal (Beauchemin et al., 2003). A diferencia de los probióticos, tales productos enzimáticos usualmente no contienen células vivas. El estudio de las enzimas en la alimentación animal empezó mucho después que el de los probióticos y aunque su mecanismo de acción sea en teoría más claro que el de los probióticos, su uso en las industrias pecuarias no es extenso debido a sus altos costos comparado con los de los probióticos (Beauchemin et al., 2003). Algunos estudios aportan evidencia que la adición de enzimas a la dieta de rumiantes mejora la digestibilidad de la fibra pero existe mucha

inconsistencia en los resultados, dependiendo de las condiciones experimentales en cada caso (Beachemin et al., 2003). Además de aumentar la actividad fibrolítica en el rumen, la adición de enzimas, puede ejercer efectos sobre las poblaciones microbianas y la razón acetato:propionato entre los ácidos grasos volátiles presentes (Giraldo et al., 2008).

4.0 MATERIALES Y METODOS

El experimento se realizó en el Proyecto de Pequeños Rumiantes localizado en la Finca Alzamora de la Universidad de Puerto Rico, Recinto de Mayagüez, UPRM. El objetivo fue determinar el efecto del suministro de un probiótico en la dieta y su efecto residual sobre el consumo y digestibilidad de la dieta y el crecimiento y salud en corderos machos destetados. El aditivo en cuestión constó de dos bacterias productoras de esporas del género *Bacillus*; *B. subtilis* y *B. licheniformis*. El experimento se llevó a cabo entre los meses de septiembre y diciembre del año 2011 y tuvo una duración de 84 días en adición a 7 días preliminares de adaptación de los animales al manejo y a la dieta experimental (Figura 1).

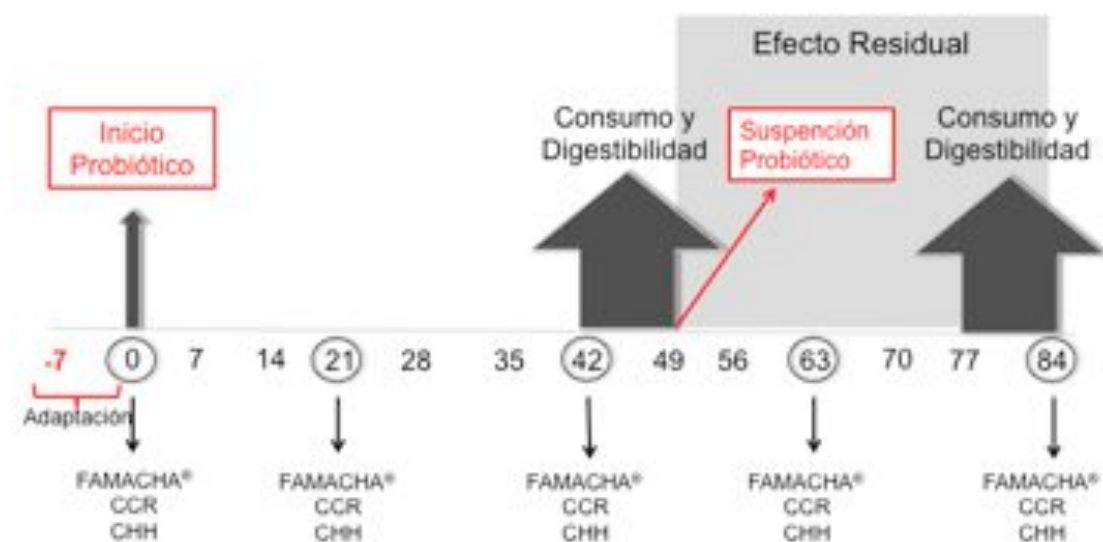


Figura 1. Diagrama del itinerario del experimento

4.1 Animales y Dieta

Se evaluaron dos tratamientos dietéticos con o sin adición del probiótico utilizando diez corderos criollos recién destetados con un peso promedio inicial de 11.2 kg. Los animales fueron desparasitados antes del comienzo del experimento con una dosis oral del antihelmíntico de amplio espectro, Valbazen® y se permitieron acostumbrarse a las instalaciones físicas y la dieta experimental sin probiótico durante 7 días (Figura 1). Los animales se alimentaron con cantidades equivalentes al 4% del PV en base seca diariamente con una dieta basal de 50% heno de gramíneas tropicales y 50% heno de la especie invasora *Hyparrhenia rufa*. El heno de GT se obtuvo de un proveedor comercial y constó de una mezcla de especies botánicas como *Panicum maximum*, *Sorghum halapense* y *Digitaria decumbens*. La hierba *H. rufa* se cosechó en la EEA-Lajas y se deshidrató al sol para luego

ser picada y ofrecida como heno. Además se ofreció a cada ovino 210 g al día de concentrado comercial (CC) peletizado. Los animales tuvieron libre acceso al agua de tomar. Muestras de los henos y el concentrado comercial fueron colectadas y analizadas en triplicado en el laboratorio de Nutrición Animal de la Universidad de Puerto Rico para determinar su contenido de MS secando las muestras a 65°C durante 48 horas; además fueron analizadas en un laboratorio comercial para determinar el contenido de PB, FDN, y FDA utilizando métodos estándares (AOAC, 1990; Van Soest, 1991).

4.2 Detalles del Procedimiento

Los 10 corderos criollos se asignaron aleatoriamente a uno de los dos tratamiento. Los animales permanecieron en jaulas individuales de dimensiones (1.52 m x 1.22 m x 1.30 m) provistas con un comedero doble para el ofrecimiento de los dos tipos de heno y uno sencillo para acomodar el CC (Figura 2). El diseño experimental fue completamente aleatorizado (DCA) con cinco repeticiones por tratamiento. Un tratamiento fue el control (sin aditivo) y el otro incluyó el aditivo de las dos cepas de bacterias *Bacillus subtilis* y *B. licheniformis* (probiótico). La adición del probiótico se realizó durante los primeros 49 días del experimento propio (Figura 1) y luego se suspendió dicha adición para determinar el efecto residual de la misma. En el aditivo las bacterias existieron en mezcla con carbonato de calcio y dióxido de silicio que sirvieron de relleno y portador. Se incorporó el aditivo en los 210 g de CC ofrecidos diariamente para así proveer 1.33×10^9 ufc/g y 1.33×10^8 ufc/animal.



Figura 2. Jaulas de ovinos con camada y comederos

4.3 Peso Vivo y Ganancia en Peso

Durante ambos periodos, los corderos se pesaron semanalmente antes de ser alimentados usando una romana colgante en que se suspendía el animal por dos cuerdas, una

pasando por el área torácica y la otra por el área inguinal (Figura 3). Los datos semanales de PV permitieron calcular la ganancia en peso que se expresó por semana, también por día y en total.



Figura 3. Pesaje de los ovinos

4.4 Variables de Salud

Durante ambos periodos del experimento se determinó cada 21 días el efecto del suministro del probiótico y luego su efecto residual sobre la salud de los ovinos. Se evaluaron los cambios en el nivel de anemia utilizando como indicadores el método FAMACHA® y el hematocrito, y el grado de parasitismo GI por el CHH.

4.4.1 FAMACHA®

Se observó la coloración de la membrana ocular de cada cordero a intervalos de 21 días para asignarle un valor según el sistema FAMACHA® al comparar la coloración observada con los colores estándares expuestos en la tarjeta diseñada para dicho propósito (Figura 4). La tarjeta tiene una escala de 1 a 5, donde 1=óptimo; 2=aceptable; 3=dudoso (“borderline”); 4=peligroso y 5=fatal con respecto al nivel de anemia en los ovinos.



Figura 4. Tarjeta de FAMACHA[®], utilizada para determinar el nivel de anemia

4.4.2 Conteo de Huevos en las Heces

Para determinar el efecto de la adición del probiótico sobre el CHH, específicamente los huevos de *H. contortus*, se tomaron las muestra de heces directamente del recto de cada ovino. Para su cuantificación se utilizó la técnica de conteo McMaster (Moore et al., 2008). Las muestras obtenidas se llevaron al laboratorio, donde se preparó y utilizó una solución salina saturada (28 ml) y 2 g de heces. Se efectuó una flotación con la mezcla de la solución salina colocándose posteriormente las heces en las dos cámaras de 0.3 mL que tiene la laminilla McMaster para contar los huevos utilizando el objetivo 10X del microscopio.

4.4.3 Volumen de Células Rojas en la Sangre (Hematocrito)

Se colectó una muestra de sangre a cada cordero de la vena yugular utilizando una aguja de 20 x 1^{1/2} y un tubo Vacutainer[™] para hematología de plástico con K₂ EDTA pulverizado en las paredes para evitar la coagulación de la sangre. Las muestras de sangre se colocaron inmediatamente en hielo hasta ser analizadas para determinar el por ciento por volumen de células rojas (hematocrito). Se llenó un tubo capilar con sangre de cada ovino y se centrifugó a 16,000 rpm durante 120 segundos con una centrifuga (StatSpin[®] MP Multipurpose Centrifuge). Los valores se leyeron con un lector de hematocrito digital.

4.5 Consumo y Digestibilidad

El consumo de alimentos y la digestibilidad de MS, PB y FDN de la dieta se determinó en dos periodos de siete días de duración durante el transcurso del experimento. El primero de los dos periodos fue durante la semana seis de P1 al finalizar la evaluación de la adición del probiótico en la dieta (días 42-49 del experimento) y el segundo durante la última semana de P2 (días 78-84 del experimento) para evaluar el efecto residual del aditivo. El consumo de cada alimento se determinó por diferencia al cuantificar lo ofrecido y lo rechazado. Para determinar la digestibilidad se usaron bolsas recolectoras de heces ajustadas

a los animales (Figura 5). Diariamente durante los 7 días de recolección de datos comparativos, las heces se pesaron en su totalidad y se tomaron muestras de los dos henos ofrecidos y rechazados y una alícuota de las heces (10%). Posteriormente, muestras compuestas de los forrajes ofrecidos y rechazados y las heces por ovino individual se analizaron para determinar los contenidos de MS y las fracciones PB y FDN (AOAC, 1990; Van Soest et al., 1991).

4.6 Análisis Estadístico

Para determinar el efecto del suministro del probiótico y luego su efecto residual sobre CV, digestibilidad de materia seca (DMS), digestibilidad de proteína bruta (DPB), digestibilidad de fibra detergente neutro (DFDN), PV, GPD, FAMACHA[®], hematocrito y CHH los datos se analizaron para P1 y P2 aparte según un DCA con 5 repeticiones por tratamiento. Se utilizó para el análisis el modelo lineal general de SAS (1990).

El modelo estadístico utilizado fue:

$$Y_i = \mu + \alpha_i + \varepsilon_i$$

Donde:

Y_{ij} = variable dependiente (ie. CV, DMS, DPB, DFDN, PV, GPD, FAMACHA[®], hematocrito y CHH)

μ = media general estimada

α_i = efecto de tratamiento (sin aditivo y con presente o previo recibo de éste)

ε_i = error experimental



Figura 5. Bolsas recolectoras de heces para determinar digestibilidad de MS, PB y FDN.

5.0 RESULTADOS Y DISCUSION

5.1 Composición Química de los Alimentos Utilizados

La composición química de los henos utilizados en este experimento llenaron las expectativas para este tipo de forrajes (Cuadro 1). En ambos periodos experimentales el heno de la especie invasora *Hyparrhenia rufa* (HHR) y el de gramíneas tropicales naturalizadas (HGT) presentaron valores de PB menores a 6% y de paredes celulares (FDN) y su fracción ligno celulolítica (FDA) altos; mayores de 75% y 47% en el HHR y mayores de 71% y 37% en el HGT, respectivamente. En un experimento relacionado Rivera (2012), también reportó que ésta especie invasora se caracteriza por su bajo contenido de PB y alto de paredes celulares, donde el contenido varió a través del año (3.12% a 7.90% de PB, 68.67% a 78.26% de FDN y 41.97% a 55.22% de FDA). Curiosamente, el HGT tuvo un menor contenido de PB en periodo 1 (P1) que en periodo 2 (P2) (4.9 vs. 5.4%) pero su contenido de FDA no guardó una relación inversa con el de PB al subir de 37.2% en P1 a 43.1% en P2. En cambio, el contenido de FDN se mantuvo casi constante en los dos sucesivos periodos (71.7 y 71.2%). Esta composición de GTN se asemeja a las observadas en estudios previos donde el % de PB, FDN y FDA fue 6.05, 69.58 y 51.82, respectivamente (Rosario, 2012). El contenido de proteína del concentrado comercial (CC) coincide con el mínimo garantizado por su fabricante (14% de PB).

Cuadro 1. Composición química de los alimentos utilizados durante ambos periodos experimentales

Componente (%) ¹	Periodo 1			Periodo 2		
	HGT	HHR	CC	HGT	HHR	CC
MS	95.1	96.1	96.4	93.7	94.9	93.6
PB ²	4.9	3.5	15.9	5.4	5.5	16.9
FDN ²	71.7	78.8	38.0	71.2	75.6	35.5
FDA ²	37.2	47.1	15.7	43.1	53.0	17.0

¹ Media de 3 repeticiones

² Base seca

5.2 Consumo Voluntario

El consumo voluntario (CV) de MS total fue mayor ($p < 0.05$) en animales que consumieron el probiótico que en aquellos alimentados sin el aditivo (484 vs. 445 g/d, Cuadro 2). Esta diferencia de 39 g representa una ventaja relativa de 9% a favor del tratamiento con probiótico. Los corderos que recibieron probiótico en la dieta consumieron 5 g menos de MS en forma de concentrado (196 vs. 201 g/d) pero 44 g más en forma de forraje henificado (288 vs. 244 g/d), lo que resultó en una mayor ($p < 0.05$) proporción de la MS total consumida en forma de forraje (59.42 vs. 54.77%) relativo al testigo sin probiótico. La diferencia entre tratamientos en consumo diario de MS en forma de forraje como porcentaje del PV fue a favor del uso de

probiótico, por un margen de 0.33 punto de porciento (2.37 vs. 2.04), que también resultó significativa ($p < 0.05$). El consumo diario de MS total como porcentaje del PV tendió ($p < 0.10$) a favor del uso del probiótico (4.00 vs. 3.72). En los restantes criterios de CV incluidos en el Cuadro 4, la diferencia entre tratamientos fue $p > 0.05$ y en solo un caso hubo un relativo acercamiento a diferencia significativa ($p < 0.11$) en la proporción de heno GTN consumido como porcentaje del mismo heno ofrecido (49.62 vs. 45.71). Esta diferencia entre tratamientos de 3.91 puntos de porciento fue semejante a la diferencia análoga del heno HR de 3.65 puntos de porciento (10.30 vs. 6.65), pero sin acercamiento a la significación estadística en este segundo caso ($p < 0.27$). Los corderos que recibieron el probiótico incluyeron una proporción mayor de heno HR y menor de GTN en el consumo total de forraje (16.47% vs. 12.27% y 83.53% vs. 87.73%, respectivamente), siendo la diferencia de 4.2 puntos de porciento en ambos casos. Estas diferencias entre tratamientos quedaron lejos de la significación estadística ($p < 0.40$) bajo las condiciones presentes, pero aun así el mayor CV relativo del heno HR en presencia del probiótico constituye una tendencia que podría merecer investigación adicional en relación al combate de la especie invasora *Hyparrhenia rufa* por medios no químicos. El consumo de PB no se vio afectado por los tratamientos (42 vs. 43 g), sin embargo un mayor pero no significativo consumo de FDN (283 vs. 248 g) favoreció a los animales suplementados con el probiótico relacionándose con un mayor consumo de forraje. El consumo de PB observado en este experimento se encuentra notablemente por debajo de los requerimientos nutricionales de ovinos destetados ofrecidos por el National Research Council (NRC), edición de 1985 (Cuadro 4).

El efecto positivo del probiótico bacteriano en promover el CV que se observó en el presente estudio es cónsono con los resultados de algunos otros investigadores pero en desacuerdo con otros. Khalid et al. (2011) observaron un efecto positivo en ovinos y postularon que la adición de probióticos en la dieta pueda tener un efecto benéfico sobre el pH ruminal, mejorando así la degradabilidad de la fibra y facilitando un aumento en el CV. Hillal et al. (2011) también observaron un mayor CV de MS en ovinos que recibieron probióticos en una dieta con alta proporción de granos cereales relativo a los del testigo sin el aditivo. Sin embargo, en un estudio con ganado vacuno confinado y alimentado con altas proporciones de granos, la suplementación con probiótico no afectó el consumo de MS (Khalid et al., 2011).

En estudios con otros tipos de aditivos relacionados, Rojo et al. (2005) añadieron amilasas producidas por *Bacillus licheniformis* y *Aspergillus niger* a la dieta de ovinos en crecimiento y observaron decreciente CV según aumentó el nivel de enzima en la dieta. Miller et al. (2008) no observaron un efecto de la adición dietética de xilanasas sobre el CV de ovinos. Haddad y Goussous (2005) suplementaron la dieta de ovinos con cultivos de levaduras

Saccharomyces cerevisiae sin observar un efecto sobre el CV. Es evidente que con respecto al CV, existe gran variabilidad en la respuesta animal a dietas con adición de probióticos o las enzimas producidas por algunas de estas cepas microbianas. Entre las causas de esta variabilidad tienen importancia la naturaleza de la dieta ofrecida y de los microorganismos o sus enzimas utilizados.

Durante el P2 que evaluó el efecto residual del probiótico, el CV de MS no se vió afectado ($p>0.05$) por los tratamientos previos, siendo la diferencias de 24 g/d a favor del testigo (587 vs. 563 g/d, Cuadro 3). Tampoco se detectó efecto residual significativo del suministro previo del probiótico sobre los otros criterios de consumo considerados en el experimento, aunque se llegó cerca ($p<0.10$) en el caso del consumo de heno GTN como porcentaje del mismo ofrecido, no obstante la pequeña diferencia media de 1.39 puntos de porcentaje (49.73 vs. 48.34) entre los dos tratamientos previos. A diferencia de lo observado en P1, los corderos que habían recibido el probiótico comieron en P2 una menor proporción de heno HR y mayor de heno GTN que los animales testigos (20.85% vs. 27.08% y 79.15% vs. 72.92%, respectivamente). Ambos grupos consumieron más heno HR en P2 que previamente. También la proporción de concentrado en la MS total consumida bajó entre P1 y P2, pero más en el grupo testigo (45.23% a 36.58%) que en el grupo con probiótico (40.58% a 37.12%). El consumo de PB (57 vs. 57 g) y de FDN (336 vs 328 g) fue similar para ambos grupos de animales. Aunque el consumo de PB en P2 fue mayor que en P1, sigue siendo un valor inferior al requerido en ovinos destetados (Cuadro 4). Estos resultados demuestran que la adición dietética del probiótico sobre el CV de corderos en crecimiento no perduró como efecto residual en P2.

Cuadro 2. Efecto del suministro de *Bacillus subtilis* y *B. licheniformis* sobre el consumo en base seca de corderos alimentados con henos de GTN y de *H. rufa* (Periodo 1).

Variable	Tratamiento		EEM ¹	p
	Control	Probiótico		
Consumo de materia seca total (g/d)	445 ^b	484 ^a	9.83	0.03
Consumo de PB (g/d)	42	43	1.46	0.47
Consumo de FDN (g/d)	248	283	23.07	0.31
Consumo de Concentrado/Consumo Total (%)	45.23	40.58	3.06	0.31
Consumo de Forraje/Consumo Total (%)	54.77 ^b	59.42 ^a	1.00	0.03
Consumo Heno GTN/Consumo Forraje (%)	87.73	83.53	3.30	0.40
Consumo Heno HR/Consumo Forraje (%)	12.27	16.47	3.30	0.40
Consumo Heno GTN/Heno GTN Ofrecido (%)	45.71	49.62	1.55	0.11
Consumo Heno HR/Heno HR Ofrecido (%)	6.65	10.30	2.17	0.27
Consumo diario de forraje en relación al PV (%)	2.04 ^b	2.37 ^a	0.08	0.02
Consumo diario de MS en relación al PV (%)	3.72 ^y	4.00 ^z	0.09	0.07

¹ EEM= Error Estándar de la Media,

^{a,b} =Medias en la misma fila con letras diferentes difieren ($p<0.05$),

^{y,z} = Medias con letras diferentes en la misma fila difieren ($p<0.10$).

Cuadro 3. Efecto residual del suministro de *Bacillus subtilis* y *B. licheniformis* sobre el consumo en base seca de corderos alimentados con henos de GTN y de *H. rufa* (Periodo 2).

Variable	Tratamiento Previo		EEM ¹	p
	Control	Probiótico		
Consumo de materia seca total (g/d)	587	563	18.74	0.39
Consumo de PB (g/d)	57	57	1.88	0.92
Consumo de FDN (g/d)	336	328	20.94	0.79
Consumo de Concentrado/Consumo Total (%)	36.58	37.12	1.98	0.85
Consumo de Forraje/Consumo Total (%)	63.42	62.88	1.38	0.50
Consumo Heno GTN/Consumo Forraje (%)	72.92	79.15	3.74	0.28
Consumo Heno HR/Consumo Forraje (%)	27.08	20.85	3.74	0.28
Consumo Heno GTN/Heno GTN Ofrecido (%)	48.34 ^y	49.73 ^z	0.45	0.06
Consumo Heno HR/Heno HR Ofrecido (%)	19.08	13.28	3.26	0.24
Consumo diario de forraje en relación al PV (%)	2.77	2.56	0.15	0.39
Consumo diario de MS en relación al PV (%)	4.36	4.07	0.18	0.30

¹ EEM=Error Estándar de la Media

^{y, z} = Medias con letras diferentes en la misma fila difieren (p<0.10)

Cuadro 4. Requerimientos nutricionales de corderos destetados según el NRC (1985).

PV (kg)	Ganancia en peso/d (kg)	MS/animal		PB (g)
		(kg)	(% PV)	
10	0.20	0.5	5.0	127
20	0.25	1.0	5.0	167

5.3 Digestibilidad

La adición dietética del probiótico conteniendo *B. subtilis* y *B. licheniformis* mostró cierta tendencia a favorecer la DMS y DPB (p<0.14) y más así la DFDN (p<0.09) en los corderos (Cuadro 5). Durante P2, las pequeñas ventajas en DMS y DFDN a favor del testigo y en DPB a favor del tratamiento con probiótico quedaron lejos de la significación estadística (Cuadro 6). Al comparar los resultados de los dos periodos lo más notable es el descenso en DMS y DFDN entre P1 y P2 en el tratamiento con probiótico. Este descenso en DMS y DFDN puede ayudarnos a evidenciar indirectamente que las bacterias no colonizaron el tracto. En ausencia de un efecto residual de la adición previa del probiótico, se puede considerar que en P2 ambos grupos de corderos estuvieron sometidos al mismo tratamiento; y esto aplica aproximadamente al grupo testigo en P1. Los tres valores de DMS correspondientes son consistentes (59.98 en P1 y 58.46 y 57.59 en P2) o 58.68 para los tres en promedio. Lo mismo aplica en el caso de DFDN, siendo los valores correspondientes de 58.68 en P1 y 57.50 y 56.85 en P2, para un promedio de 57.68. La consistencia entre los tres valores en el caso de DPB es sólo un poco menos (59.55 en P1 y 60.78 y 62.11 en P2) o 60.81 en promedio. Estos resultados de digestibilidad y los de CV indican que con el suplemento de alimento concentrado que hubo (210 g/d) la dieta basal fue de una calidad nutricional razonable. Cassida et al. (1994)

observaron que en ovinos la DMS de dietas compuestas 100% de forrajes está cerca de 55. En cambio este valor puede acercarse a 84 si la dieta basal está constituida por granos cereales (Hillal et al., 2011). Jones et al. (1972) encontraron DMS entre 51 y 54 para una alimentación basada 100% en heno de alfalfa sin suplementación, lo que es inferior a los valores del presente estudio.

Cuadro 5. Efecto de suministro como parte integral de la dieta de *Bacillus subtilis* y *B. licheniformis* sobre la digestibilidad en corderos alimentados con Henos de GTN y de *H. rufa* (Periodo 1).

Digestibilidad Aparente (%)	Tratamiento		EEM ¹	p
	Control	Probiótico		
MS	59.98	62.62	1.17	0.14
Ofrecido (g)	662	678	53.02	0.79
Rechazado (g)	218	194	16.74	0.32
Excretado (g)	178	182	12.45	0.89
PB	59.55	61.56	1.01	0.14
Ofrecido (g)	50	51	1.75	0.79
Rechazado (g)	8	8	0.80	0.45
Excretado (g)	17	17	1.36	0.87
FDN	58.68 ^y	62.51 ^z	1.35	0.09
Ofrecido (g)	425	437	31.37	0.79
Rechazado (g)	178	155	13.09	0.25
Excretado (g)	102	105	8.98	0.82

¹EEM=Error Estándar de la Media

^{y, z}= Medias con letras diferentes en la misma fila difieren (p<0.10)

Cuadro 6. Efecto residual de suministro como parte integral de la dieta de *Bacillus subtilis* y *B. licheniformis* sobre la digestibilidad en corderos alimentados con Henos de GTN y de *H. rufa* (Periodo 2).

Digestibilidad Aparente (%)	Tratamiento Previo		EEM ¹	p
	Control	Probiótico		
MS	58.46	57.59	1.07	0.58
Ofrecido (g)	764	780	67	0.45
Rechazado (g)	179	215	22.13	0.31
Excretado (g)	243	242	12.57	0.89
PB	60.78	62.11	1.25	0.48
Ofrecido (g)	66	67	2.23	0.78
Rechazado (g)	9	9	1.65	0.78
Excretado (g)	22	22	1.30	0.77
FDN	57.50	56.85	1.08	0.69
Ofrecido (g)	481	494	29.97	0.78
Rechazado (g)	145	165	19.07	0.47
Excretado (g)	143	141	8.67	0.83

¹EEM=Error Estándar de la Media

Referente al efecto de los probióticos sobre la digestibilidad, en otras investigaciones la adición de probióticos en la dieta ha logrado una respuesta positiva (Khalid et al., 2011). Hillal et al. (2011) encontraron que corderos suplementados con un probiótico aportador de cepas de *Lactobacillus* y *Pediococcus* digirieron la PB en mayor grado que los animales no suplementados con las bacterias. En otro experimento relacionado, ovinos suplementados con cultivos de levaduras y no con microorganismos vivos, lograron mayor digestibilidad de MS (63.2 vs. 67.6 %), de PB (58.9 vs. 65.3 %) y de FDN (52.1 vs. 56.1 %) que aquellos sin suplementación (Haddad y Goussous, 2005). El posible efecto benéfico de la suplementación con probiótico podrían involucrar un mejoramiento en la salud del tracto GI, estabilización del pH ruminal y la interacción con bacterias utilizadoras de ácido láctico (Hillal et al., 2011). Se ha sugerido que el efecto del probiotico sobre la digestión de la fracción fibrosa puede ser más eficaz en ovinos que consumen dietas altas en concentrado (Khalid et al., 2011). Wang et al. (2009) encontraron que el producto comercial BioPlus 2B®, el cual contiene cepas de *Bacillus*, no alteró la digestibilidad aparente de MS en cerdos en crecimiento. Coincide con esto los hallazgos de Kornegay y Risley (1996) que en cerdos la digestibilidad no se vió afectado por la adición dietética de productos conteniendo *Bacillus*.

Wang et al. (2009) señalan que las especies de *Bacillus* no son parte de la microflora intestinal autóctona, por tanto no colonizan el tracto GI. La poca capacidad colonizadora que tienen las bacterias del género *Bacillus* había sido confirmado por Kornegay y Risley (1996). Los resultados del presente experimento apoyan el supuesto que las bacterias del género *Bacillus* necesitan una continua adición a la dieta para ser efectivas. En general y aunque los resultados entre experimentos varían mucho, la adición de probióticos en dietas de ovinos podrían ser una alternativa para mejorar la digestibilidad (Khalid et al., 2011).

5.4 Ganancia en Peso

En este experimento se evaluó en P1 el efecto del suministro en la dieta de un probiótico y en P2 el efecto residual del mismo sobre las ganancia en peso de ovinos criollos recién destetados. Durante la adición dietética del probiótico por los primeros 49 días de experimentación, la ganancia en peso total de los ovinos tendió ($p=0.07$) a ser menor en aquellos que consumieron el probiótico que en el grupo control (1.14 vs. 1.00 kg) a pesar de la pequeña magnitud de la diferencia. Las correspondientes ganancias expresadas por semana y por día fueron 0.162 vs. 0.143 kg y 0.023 vs. 0.020 kg (Cuadro 7). Las curvas representando los PV a través del tiempo muestran en general patrones similares entre ambos grupos de animales (Figura 6). Los dos grupos perdieron peso durante la primera semana, luego a partir de la

segunda semana (grupo testigo) y tercera semana (grupo con probiótico) ganaron peso durante el resto de P1.

Durante P2, no hubo indicios de un efecto residual del probiótico sobre la ganancia en peso total y los cambios en PV de los dos grupos de animales a través del tiempo siguieron siendo muy semejantes (Cuadro 8, Figura 7). Ambos grupos ganaron peso en todos los cinco intervalos semanales entre pesajes sucesivos y en total su GPD fue más del doble de lo que había sido en P1.

En la presente prueba se sometieron cinco corderos a recibir un probiótico en la dieta durante 49 días, lo que constituye pocas unidades experimentales y poco tiempo de observación relativo a lo que se necesitaría para una evaluación rigurosa del posible efecto del probiótico sobre el crecimiento (formación de tejido corporal) del animal. La conversión de los alimentos en tejidos corporales depende de la cantidad de alimentos consumidos, lo extenso de su digestión y la utilización posabsortivo de los nutrientes aportados. Si los efectos positivos del probiótico dietético sobre el CV y la digestión de la fibra, tal como se observó en el presente caso, se quedasen comprobados por investigación adicional, sería de esperar un efecto positivo también sobre el crecimiento animal en ausencia de otros factores complicantes. Resultados negativos referentes a un efecto del suministro de un probiótico sobre el crecimiento han caracterizado algunos otros experimentos. El PV de caprinos no se vio afectado por la adición de un probiótico dietético conteniendo diferentes bacterias y enzimas producidas por *Bacillus subtilis* durante 56 días (Whitley et al., 2009a). Terneros alimentados con un sustituto de leche conteniendo un probiótico aportador de *Bacillus subtilis* no difirieron de los controles en ganancia en peso (Jenny et al., 1991). Existen ejemplos de esto en experimentos con animales no rumiantes también. Dos productos basados en *Bacillus* añadidos a la dieta de cerdos durante 10 días no afectó el PV de los animales relativo al grupo control (Kornegay y Risley, 1996). Cepas de *B. subtilis* y *B. licheniformis* fueron evaluadas en la dieta de cerdos durante 60 días sin observar efecto en la ganancia en peso (Davis et al., 2008). También existen casos de la situación contraria en que otros investigadores han obtenido mejores ganancias en peso de los animales alimentados con probiótico. Haddad y Goussous (2005) reportaron una GPD mayor en ovinos alimentados con una dieta alta en granos con adición de levaduras que en los que recibieron la dieta control (0.266 vs. 0.212 kg). Dichas GPD superaron por mucho los observados en el presente experimento de 0.023 y 0.020 kg/día sin y con el probiótico en la dieta basada en henos de gramíneas tropicales y poco CC, respectivamente. Como posibles mecanismos explicativos del efecto positivo de la adición de levadura sobre el crecimiento animal se postuló una mayor síntesis ruminal de proteína microbiana y una mejor utilización de

la fracción fibrosa en la dieta. También, se ha observado aumentos en el CV en animales con dietas altas en granos en conjunto con una mejor actividad celulolítica y degradación de fibra dietética (Khalid et al., 2011). Sun et al. (2010), observaron que la adición de *B. subtilis* en la dieta de becerros antes del destete mejoró la GPD (0.310 vs. 0.350 kg/d). La GPD de porcinos suplementados por 35 días con *B. subtilis* y *B. licheniformis*, mostró tendencia ascendiente según aumentaba el nivel del probiótico en la dieta (Wang et al., 2009).

Por otro lado, un aumento en la digestibilidad de MS no necesariamente resulta en un aumento en el peso de ovinos (Crosby et al., 2006). En el presente experimento, la digestibilidad de la dieta en los ovinos que consumieron el probiótico fue numéricamente de 3 a 4 unidades porcentuales mayor que aquellos sin el aditivo, pero no se observó diferencias en la ganancia en peso. Posiblemente la dieta ofrecida no proveyó todos los nutrientes requeridos para lograr una mayor ganancia en peso a pesar de aumentar levemente el consumo y la digestibilidad de la misma. A propósito, como se observa en el Cuadro 4, el requerimiento de PB de corderos destetados con un PV de 10 kg para ganar 0.2 kg/d es de 127 g, valor que está muy por encima del consumido por ambos grupos en el presente experimento (42 y 43 g en P1 y 57 g en P2). Aunque los animales hubieran tenido la capacidad de consumir la dieta ofrecida en su totalidad (Cuadro 5 y 6), ésta no aportaría la cantidad de proteína requerida teóricamente.

Cuadro 7. Efecto de suministro como parte integral de la dieta de *Bacillus subtilis* y *B. licheniformis* sobre la ganancia en peso total, semanal y diaria de corderos alimentados con henos de GTN y de *H. rufa* (Periodo 1).

Variable	Tratamiento		EEM ¹	p
	Control	Probiótico		
Peso inicial (kg)	11.0 ^y	11.5 ^z	1.09	0.09
Peso final (kg)	12.1 ^y	12.5 ^z	0.95	0.06
Ganancia total (kg)	1.1 ^z	1.0 ^y	0.36	0.07
Ganancia semanal (kg)	0.162 ^z	0.143 ^y	0.052	0.07
Ganancia diaria (kg)	0.023 ^z	0.020 ^y	0.007	0.07

¹ EEM= Error Estándar de la Media

^{y,z} = Medias en la misma fila con letra diferente difieren (p<0.10)

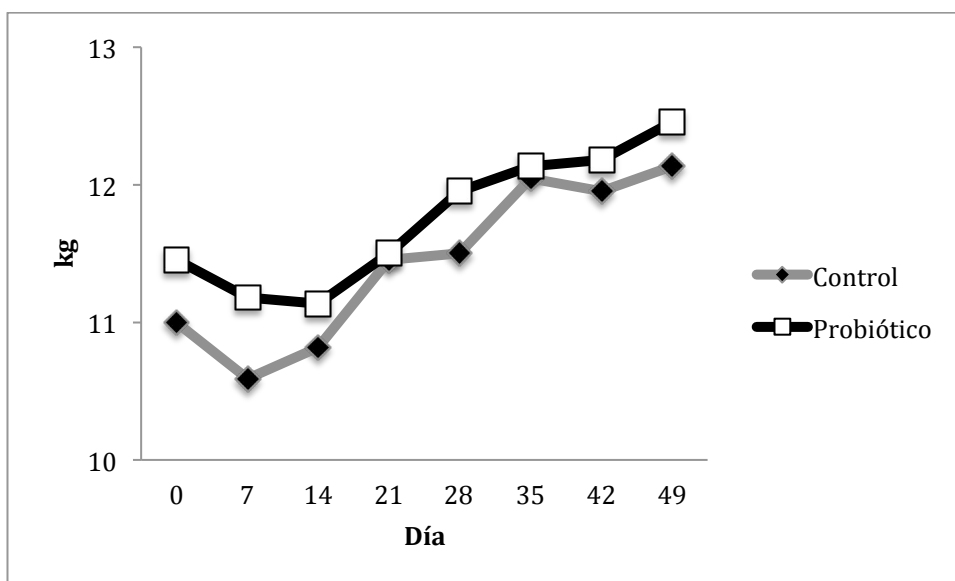


Figura 6. Efecto del suministro como parte integral de la dieta de *Bacillus subtilis* y *B. licheniformis* sobre el cambio en PV de corderos alimentados con henos de GTN y de *H. rufa*.

Cuadro 8. Efecto residual de suministro como parte integral de la dieta de *Bacillus subtilis* y *B. licheniformis* sobre la ganancia en peso total, semanal y diaria de corderos alimentados con henos de GTN y de *H. rufa* (Periodo 2).

Variable	Tratamiento Previo		EEM ¹	p
	Control	Probiótico		
Peso inicial (kg)	12.1	12.5	2.1	0.81
Peso final (kg)	14.5	14.8	2.3	0.83
Ganancia total (kg)	2.4	2.4	0.6	1.00
Ganancia semanal (kg)	0.338	0.338	0.036	1.00
Ganancia diaria (kg)	0.048	0.048	0.005	1.00

¹ EEM= Error Estándar de la Media

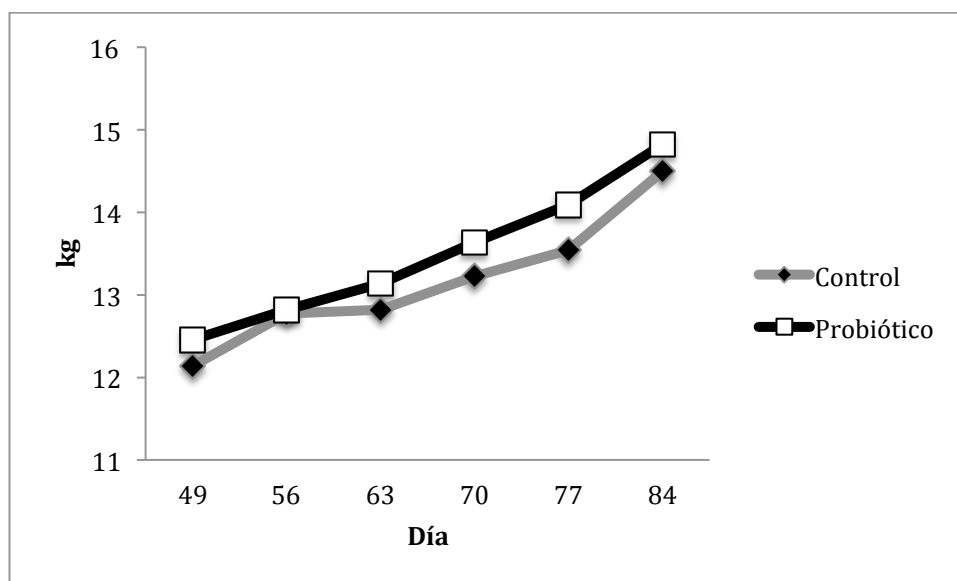


Figura 7. Efecto residual del suministro como parte integral de la dieta de *Bacillus subtilis* y *B. licheniformis* sobre el cambio en PV de corderos alimentados con henos de GTN y de *H. rufa*.

5.5 Conteo de Huevos en Heces

Un conteo mayor de 800 h/g se considera un grado de infestación alto (Morales et al., 2010). Durante el transcurso del P1 los CHH se mantuvieron siempre por encima de dicho nivel (Cuadro 9). No resultó significativa ($p>0.05$) la diferencia en el conteo inicial, siendo mayor en el grupo destinado a recibir el probiótico (1380 vs. 820 h/g). Después de 21 y 42 días del experimento se observó en ambos grupos primero un aumento y luego una reducción en los conteos (Cuadro 9). Sin embargo, el cambio en el CHH del día 0 al 21 fue menor ($p<0.05$) en los animales que consumieron el probiótico que en aquellos sin consumirlo (1400 vs. 1570 h/g). A pesar de una mayor diferencia entre ambos tratamientos en los respectivos cambios del día 21 al 42 (1300 vs. 560 h/g) esta no alcanzó significación estadística ($p>0.05$). Del día 0 al 42 el aumento neto en CHH fue notablemente menor en el grupo con probiótico (100 vs. 1010 h/g), pero otra vez sin diferencia significativa ($p>0.05$). Sin embargo, a los 42 días el tratamiento testigo había pasado a ser el de mayor CHH (1830 vs. 1480 h/g). Durante el P2 se observó un progresivo descenso en los CHH en ambos grupos, pero más acelerado en los corderos con probiótico previo, hasta terminar a los 84 días con conteos satisfactorios en este grupo (440 h/g), mientras que el grupo testigo terminó el experimento con un conteo de 1230 h/g (Cuadro 10). Ninguna de estas diferencias alcanzaron un nivel significativo ($p>0.05$). Al observar la tendencia en CHH a lo largo de los dos periodos, es alentadora la disminución marcada en ambos grupos de animales después del día 21 y también el posible rol facilitador del probiótico.

La información publicada sobre un posible efecto de adicionar probiótico en dietas para corderos sobre el parasitismo GI es limitada. No se ha definido un mecanismo de acción de las

cepas de bacterias del probiótico relativo a la posible reducción en el CHH. El nematodo *H. contortus* en su etapa adulta se aloja en el abomaso. Los probióticos pueden verse afectados por el bajo pH en este órgano. Las esporas de *Bacillus* son capaces de resistir bajos pH pero no proliferar ni colonizar este compartimiento (Hong et al., 2005). Una sugerencia es que la modulación del hospedero por parte del probiótico previene o amortigua la inflamación del tracto digestivo o partes del mismo (Socol et al., 2010). Otra postulación es que ciertas proteínas cristalinas producidas por bacterias del género *Bacillus*, que se está utilizando para el control de nemátodos, afecta la constricción y el adelgazamiento de las células del intestino de los gusanos por lo que éstos muestran apariencia degenerativa cuando consumen estas bacterias (Wei et al., 2003). Semejante efecto nematicida podría resultar en una disminución en el CHH. Es claro que se precisa más investigaciones para delucidar los mecanismos de acción de cepas bacterianas que componen el probiótico y su posible efecto antiparasítico.

Cuadro 9. Efecto de suministro como parte integral de la dieta de *Bacillus subtilis* y *B. licheniformis* sobre CHH en corderos alimentados con henos de GTN y de *H. rufa* (Periodo 1).

Día	Cambio	Tratamiento		EEM ¹	p
		Control	Probiótico		
0		820	1380	340	0.28
	21-0	1570 ^a	1400 ^b	531	0.05
21		2390	2780	611	0.20
	42-21	-560	-1300	601	0.76
42		1830	1480	467	0.28
	42-0	1010	100	603	0.32

¹ EEM=Error Estándar de la Media

^{a,b} = Medias con letras diferentes en la misma fila difieren (p<0.05)

Cuadro 10. Efecto residual de suministro como parte integral de la dieta de *Bacillus subtilis* y *B. licheniformis* sobre CHH en corderos alimentados con henos de GTN y de *H. rufa* (Periodo 2).

Día	Cambio	Tratamiento Previo		EEM ¹	p
		Control	Probiótico		
42		1830	1480	467	0.28
	63-42	-560	-470	1085	0.89
63		1270	1010	1275	0.76
	84-63	-40	-570	1017	0.43
84		1230	440	1042	0.27
	84-42	-600	-1040	761	0.38

¹ EEM=Error Estándar de la Media

5.6 Volumen de Células Rojas en la Sangre

La adición del probiótico a la dieta no tuvo efecto sobre el hematocrito en los ovinos en crecimiento (Cuadro 11). Los valores iniciales del grupo testigo y el destinado a consumir

el probiótico fueron 24.4 vs. 20.6%, respectivamente. A los 21 días el valor testigo siguió inalterado a 24.4% mientras que el grupo tratado con probiótico había subido a 23.2%. Durante el próximo intervalo el grupo testigo evidenció una reducción apreciable a 17.9% y el grupo con probiótico un leve descenso a 22.6%. Los cambios en el hematocrito del día 0 al 42 y del día 21 al 42 tendieron ($p < 0.10$) a disminuir más en los animales testigos que en aquellos que consumieron el probiótico. Ninguna de estas diferencias alcanzó la significación estadística ($p > 0.05$) pero tanto el aumento durante los 42 días como el valor final favorecieron el uso del probiótico. Durante el P2 el grupo testigo recuperó un buen nivel de hematocrito pero el grupo con probiótico previo siguió llevando cierta ventaja aunque no significativa ($p > 0.05$). A los 63 días esta ventaja se había acercado a la significación ($p < 0.07$) (26.5% vs. 20.3%) pero luego se redujo en las cifras finales (25.1% vs. 23.4). Al igual que en el caso del CHH, existe poca o ninguna investigación previa publicada sobre efectos favorables de los probióticos en la hematología de ovinos. En el presente estudio, la adición del probiótico a la dieta mostró tendencias favorables pero no significativas referentes al CHH y al hematocrito. Estas dos variables están correlacionadas ya que los huevos fecales provienen de nematodos GI los cuales se alimentan de sangre y causan pérdida de células rojas del hospedero. Al-Saiady (2011) evaluó la adición diaria de un probiótico conteniendo bacterias del género *Lactobacillus* en la alimentación de terneros recién nacidos y observó un aumento en el volumen de células rojas. Comentó también que esto se había observado anteriormente en infantes humanos y pavos suplementados con probióticos.

Cuadro 11. Efecto de suministro como parte integral de la dieta de *Bacillus subtilis* y *B. licheniformis* sobre hematocrito en corderos alimentados con henos de GTN y de *H. rufa* (Periodo 1).

Día	Cambio	Tratamiento		EEM ¹	p
		Control	Probiótico		
0		24.4	20.6	3.0	0.77
	21-0	0	2.6	2.0	0.82
21		24.4	23.2	1.8	0.21
	42-21	-6.5	-0.6	1.9	0.06
42		17.9	22.6	2.2	0.18
	42-0	-6.5	2.0	2.9	0.07

¹ EEM=Error Estándar de la Media

Cuadro 12. Efecto residual de suministro como parte integral de la dieta de *Bacillus subtilis* y *B. licheniformis* sobre hematocrito en corderos alimentados con henos de GTN y de *H. rufa* (Periodo 2).

Día	Cambio	Tratamiento Previo		EEM ¹	p
		Control	Probiótico		
42		17.9	22.6	2.2	0.18
	63-42	2.4	3.8	4.6	0.64
63		20.3	26.5	4.6	0.07
	84-63	3.1	-1.4	6.3	0.29
84		23.4	25.1	5.6	0.65
	84-42	5.5	2.5	8.1	0.57

¹ EEM=Error Estándar de la Media

5.7 FAMACHA®

Durante todo el experimento ninguno de los ovinos participantes mostró niveles de descoloración de la membrana ocular mayores de 3 en la escala FAMACHA®, donde valores de 4 y 5 son indicativos de un estado anémico en pequeños rumiantes. Los valores observados según el método de FAMACHA® no difirieron ($p>0.05$) entre los grupos con o sin la adición del probiótico a la dieta (Cuadro 13). Los niveles inferidos de anemia a los días 0, 21 y 42 fueron 2.4 vs. 2.2, 2.6 vs. 2.4 y otra vez 2.4 vs. 2.2 para los tratamientos control y probiótico, respectivamente. Por lo tanto, estos valores promedio de ambos grupos mostraron exactamente el mismo patrón de cambio con el tiempo en P1 (Cuadro13). Los valores registrados a los días 63 y 84 fueron 2.8 vs. 2.2 y 2.4 vs. 1.8, para el control y tratamiento previo con probiótico, respectivamente, mostrando una diferencia aunque no significativa ($p>0.05$) a favor del segundo. Al igual que el hematocrito, el nivel de este otro indicador de anemia está correlacionado con el parasitismo por nemátodos en el tracto GI y con el CHH. No se conoce la existencia de investigaciones previas pertinentes que se hayan publicado para poder hacer contrastes pero en el presente trabajo el probiótico puede haber sido levemente beneficioso para contrastar la anemia en los corderos.

Cuadro 13. Efecto de suministro como parte integral de la dieta de *Bacillus subtilis* y *B. licheniformis* sobre nivel de anemia según el método FAMACHA® en corderos alimentados con henos de GTN y de *H. rufa* (Periodo 1).

Día	Cambio	Tratamiento		EEM ¹	p
		Control	Probiótico		
0		2.4	2.2	0.2	0.40
	21-0	0.2	0.2	0.3	1.00
21		2.6	2.4	0.2	0.33
	42-21	-0.2	-0.2	0.3	1.00
42		2.4	2.2	0.4	0.13
	42-0	0	0	0.4	1.00

¹ EEM=Error Estándar de la Media

Cuadro 14. Efecto residual de suministro como parte integral de la dieta de *Bacillus subtilis* y *B. licheniformis* sobre el nivel de anemia según el método FAMACHA® en corderos alimentados con henos de GTN y de *H. rufa* (Periodo 2).

Día	Cambio	Tratamiento Previo		EEM ¹	p
		Control	Probiótico		
42		2.4	2.2	0.4	0.13
	63-42	0.4	0	0.3	0.14
63		2.8	2.2	0.9	0.36
	84-63	-0.4	-0.4	1.0	1.00
84		2.4	1.8	0.7	0.22
	84-42	0	-0.4	0.9	0.52

¹ EEM=Error Estándar de la Media

6.0 CONCLUSIONES

Efecto de la Adición Dietética del Probiótico (Periodo 1)

- El efecto de la adición del probiótico conteniendo cepas de las bacterias *Bacillus subtilis* y *B. licheniformis* en corderos alimentados con heno de GTN y heno de *Hyparrhenia rufa* y un suplemento de alimento concentrado sobre el crecimiento de los ovinos no pudo ser evaluado adecuadamente por lo corto del periodo de suministro y los pocos animales utilizados.
- Durante la adición del probiótico, los ovinos que lo recibieron tuvieron un mayor ($p<0.05$) consumo diario de MS total (en términos absolutos y como porcentaje del PV) y de MS en forma de forraje vs. concentrado proporcionalmente.
- La digestibilidad de la fracción fibrosa del alimento aumentó ($p<0.05$) en los animales durante el consumo del probiótico y la tendencia fue así pero ($p>0.05$) también para la digestibilidad de MS y PB
- La adición del probiótico en la dieta no mejoró significativamente los parámetros indicativos de parasitismo y anemia; conteo de huevos en las heces, hematocrito y severidad de anemia según el método FAMACHA[®], pero las tendencias observadas le fueron favorables.

Efecto Residual del Probiótico (Periodo 2)

- No se observó un efecto residual sobre la ganancia en peso de los ovinos luego de haber suspendido el suministro del aditivo en la dieta.
- El consumo de MS total no se vió afectado por la adición previa del probiótico en la dieta si bien se detectó una pequeña pero casi significativa ($p<0.10$) tendencia en la proporción del heno GTN consumido como porcentaje del mismo heno ofrecido favorable al uso previo del probiótico.
- Las diferencias entre los dos grupos en digestibilidad de MS, PB y FDN fueron pequeñas y no significativas ($p>0.05$).
- Se notó una tendencia favorable al uso previo del probiótico para reducir el conteo de huevos de parásitos en las heces pero no el hematocrito ni los valores de FAMACHA[®]

7.0 RECOMENDACIONES

En este experimento se observó varios beneficios al suministrar el probiótico durante 49 días, pero sin efectos residuales notables o significativos sobre ninguna de las variables. Por lo tanto, afirmamos que para obtener beneficios relacionados al probiótico se debe suplementarlo diariamente en la dieta de los animales. Para evaluar adecuadamente el efecto del probiótico sobre parámetros de crecimiento se precisa suministrar el probiótico por un periodo de tiempo mayor de 49 días.

8.0 IMPLICACIONES

La posible utilización de aditivos bacterianos conteniendo cepas, como las de *Bacillus subtilis* y *B. licheniformis*, para mejorar el rendimiento productivo de rumiantes pequeños no admite conclusiones firmes al presente y merece mayor estudio. La magnitud de los beneficios obtenidos en este estudio, al adicionar el probiótico a la dieta de henos de baja calidad y un modesto suplemento de concentrado, en el consumo de MS y digestibilidad de la fracción fibrosa no se traducirían necesariamente en significativo valor práctico en operaciones pecuarias. Se ha sugerido que la utilización de dietas más altas en contenido de nutrientes digeribles podría maximizar los efectos positivos esperados. Sin embargo, en el trópico el alto costo de los concentrados puede hacer inaplicable esta estrategia.

9.0 REFERENCIAS

- Acero, R. A. 2007. Evaluación de dos estrategias de alimentación en ganado caprino: Vigorización energética (“Flushing”) en hembras reproductoras y uso de *Calliandra calothyrsus* en cabros destetados. Tesis de MS. Universidad de Puerto Rico. <http://grad.uprm.edu/oeg/TesisDisertacionesDigitales/IndustriaPecuarial/>
- Al-Saiady, M. Y. 2010. Effect of probiotic bacteria on immunoglobulin G concentration and other blood components of newborn calves. J. Anim. Vet. Adv. 9:604-609.
- Alba-Hurtado F, E. Romero-Escobedo, M. A. Muñoz-Guzmán, G. Torres-Hernández, and C.M. Becerril-Pérez. 2010. Comparison of parasitological and productive traits of Criollo lambs native to the central Mexican Plateau and Suffolk lambs experimentally infected with *Haemonchus contortus*. Vet. Parasit. 172:277-288.
- A.O.A.C. (Association of Official Analytical Chemists). 1991. Official methods of analysis, 13th ed. Washington, D. C.
- Aranda, E., G. D. Mendoza, C. García-Bojalila, and F. Castrejón. 2001. Growth of heifers grazing stargrass complemented with sugar cane, urea and a protein supplement. Livest. Prod. Sci. 71:201–206.
- Bargo F., L. D. Muller, E. S. Kolver, and J. E. Delahoy. 2003. *Invited Review*: Production and digestion of supplemented dairy cows on pasture. J. Dairy Sci. 86:1–42.
- Beauchemin, K. A., D. Colombatto, D. P. Morgavi, and W. Z. Yang. 2003. Use of exogenous fibrolytic enzymes to improve feed utilization by ruminants. J Anim. Sci. 81:E37-E47.
- Bhandari, S. K., B. Xu, C. M. Nyachoti, D. W. Giesting, and D. O. Krause. 2008. Evaluation of alternatives to antibiotics using an *Escherichia coli* K88+ model of piglet diarrhea: Effects on gut microbial ecology. J. Anim. Sci. 86:836-847.
- Burke, J. M., R.M. Kaplan, J.E. Miller, T.H. Terrill, W.R. Getz, S. Mobini, E. Valencia, M.J. Williams, L.H. Williamson, and A.F. Vatta. 2007. Accuracy of the FAMACHA system for on-farm use by sheep and goat producers in the southeastern United States. Vet. Parasit. 147:89–95.
- Burke, J. M., J.E. Miller, and T.H. Terrill. 2009. Impact of rotational grazing on management of gastrointestinal nematodes in weaned lambs. Vet Parasit. 163:67-72.
- Cassida, K. A., B A Barton, R L Hough, M H Wiedenhoeft, and K Guillard. 1994. Feed intake and apparent digestibility of hay-supplemented brassica diets for lambs. J Anim Sci. 72:1623-1629
- Crosby, M. M., G. D. Mendoza, L. M. Melgoza, R. Bárcena, F. X. Plata, and E. M. Aranda. 2006. Effects of *Bacillus licheniformis* amylase on starch digestibility and sheep performance. J. Appl. Anim. Res. 30 : 133-136.
- Davis, M. E., T. Parrott, D. C. Brown, B. Z. de Rodas, Z. B. Johnson, C. V. Maxwell, and T. Rehberger. 2008. Effect of a *Bacillus*-based direct-fed microbial feed supplement on growth performance and pen cleaning characteristics of growing-finishing pigs. J. Anim. Sci.

86:1459-1467.

Dehority, B. A. 2002. Gastrointestinal tracts of herbivores, particularly the ruminant: anatomy, physiology and microbial digestion of plants. J. Appl. Anim. Res. 21:145-160.

Elías, A. 2004. Efectos de las fuentes de energía en la población microbiana ruminal de terneros Friesan. Rev. Cubana Cien. Agr. 38, (4): 381.

Fleige, S., W. Preißinger, H. H. D. Meyer, and M. W. Pfaffl. 2009. The immunomodulatory effect of lactulose on *Enterococcus faecium* fed preruminant calves. J. Anim. Sci. 87:1731-1738.

Ghorbani, G. R., D. P. Morgavi, K. A. Beauchemin, and J. A. Leedle. 2002. Effects of bacterial direct-fed microbials on ruminal fermentation, blood variables, and the microbial populations of feedlot cattle. J. Anim. Sci. 80:1977-1985.

Giraldo L. A., M. L. Tejido, M. J. Ranilla, S. Ramos, and M. D. Carro. 2008. Influence of direct-fed fibrolytic enzymes on diet digestibility and ruminal activity in sheep fed a grass hay-based diet. J. Anim. Sci. 86:1617-1623.

Haddad, S. G., and S.N. Goussous. 2005. Effect of yeast culture supplementation on nutrient intake, digestibility and growth performance of Awassi lambs. Anim. Feed Sci. Tech. 118 : 343-348

Hillal, H., G. El-Sayaad, and M. Abdella. 2011. Effect of growth promoters (probiotics) supplementation on performance, rumen activity and some blood constituents in growing lambs. Archiv Tierzucht 54 : 607-617

Hong, H. A., L. H. Duc, and S. M. Cutting. 2005. The use of bacterial spore formers as probiotics. FEMS Microbiol. Rev. 29:813-835.

Jenny, B. F., H. J. Vandijk, and J. A. Collins. 1991. Performance and fecal flora of calves fed a *Bacillus subtilis* concentrate. J. Dairy Sci. 74:1968-1973

Jones, G. M., R. E. Larsen, A. H. Javed, E. Donefer, and J. M. Gaudreau. 1972. Voluntary intake and nutrient digestibility of forages by goats and sheep. J Anim Sci. 34:830-838.

Khalid, M. F., M. A. Shahzad, M. Sarwar, A. U. Rehman, M. Sharif, and N. Mukhtar, 2011. Probiotics and lamb performance: A review. African J. Agri. Res. 6 : 5198-5203.

Kornegay, E. T. and C. R. Risley. 1996. Nutrient digestibilities of a corn-soybean meal diet as influenced by *Bacillus* products fed to finishing swine. J. Anim Sci 74:799-805.

Krehbiel, C. R., S. R. Rust, G. Zhang, and S. E. Gilliland. 2003. Bacterial direct-fed microbials in ruminant diets: Performance response and mode of action. J Anim. Sci. 81:E120-E132.

Kritas, S. K., A Govaris, G. Christodouloupoulos, and A. R. Burriel. 2006. Effect of *Bacillus licheniformis* and *Bacillus subtilis* supplementation of ewe's feed on sheep milk production and young lamb mortality. J. Vet. Med. Ass. 53:170-173.

Laborde, J. M. 2008. Effects of probiotics and yeast culture on rumen development and

growth of dairy calves. Louisiana State University Electronic Thesis and Dissertation Collection, etd-11132008-162559.

Leask, R., J.A. van Wyk, P.N. Thompson, and G.F. Bath. 2012. The effect of application of the FAMACHA© system on selected production parameters in sheep. *Small Rum Res* 110 : 0921-4488

Mandal, A. and D.K. Sharma. 2008. Inheritance of faecal nematode egg count in Barbari goats following natural *Haemonchus contortus* infection. *Vet Parasit* 155:89-94.

Mandonnet, N., M. Bachand, M. Mahieu, R. Arquet, F. Baudron, L. Abinne-Molza, H. Varo, and G. Aumont. 2005. Impact on productivity of peri-parturient rise in fecal egg counts in Creole goats in the humid tropics. *Vet. Parasit* 134:249-259.

Más, E. G. y O. García Molinari. 2006. Guía ilustrada de yerbas comunes en Puerto Rico. 2da. Edición Ampliada y Revisada, pp 13-17. USDA, Servicio de Conservación de Recursos Naturales.

Martínez, E. M., A.A Rodríguez, and P. F. Randel. 2013. Use of small ruminants for biological control of the invasive weed *Hyparrhenia rufa*. Department of Animal Industry, University of Puerto Rico, Mayaguez Campus.

Miller, D. R., R. Elliott, and B.W. Norton. 2008. Effects of an exogenous enzyme, Roxazyme® G2 Liquid, on digestion and utilisation of barley and sorghum grain-based diets by ewe lambs. *Anim Feed Sci. Tech.* 140 : 90-109.

Moore, D. A., T. H. Terrill, B. Kouakou, S. A. Shaik, J. A. Mosjidis, J. E. Miller, M. Vanguru, G. Kannan, and J. M. Burke. 2008. The effects of feeding sericea lespedeza hay on growth rate of goats naturally infected with gastrointestinal nematodes. *J. Anim. Sci.* 86:2328-2337.

Morales, G., A. T. Guillen, A. Pinho, L. Pino y F. Barrios. 2010. Clasificación por el método Famacha y su relación con el valor de hematocrito y recuento de h.p.g. de ovinos criados en condiciones de pastoreo. *Zootec. Trop.* 28: 545-555.

Musa, H. H., S. L. Wu, C. H. Zhu, H. I. Seri, and G. Q. Zhu. 2009. The potencial benefits of probiotics in animal production and health. *J. Anim. Vet. Adv.* 8:313-321.

Nicoletti, J. M., C. L. Davis, R. B. Hespell, and J.A.Z. Leedle. 1984. Enumeration and presumptive identification of bacteria from the small intestine of sheep. *J. Dairy Sci.* 67:1227-1235.

Peede, M. L. 1997. Efecto del probiotico Bovex® en la ganancia de peso y composición sanguínea de terneros de lechería. Universidad Austral de Chile, Tesis electrónicas. <http://www.tesis.uchile.cl/>

Ramos, J. A., G.D. Mendoza M., E. Aranda I., C. Garcia-Bojalil, R. Barcena G., and J. Alanis R. 1998. Escape protein supplementation of growing steers grazing stargrass. *Anim. Feed Sci. Tech.* 70:249-256.

Rivera, V. L. 2012. Alternativas para el control biológico de la maleza invasora, *Hyparrhenia rufa*: hongos fitopatógenos y ganado caprino. Tesis de M.S. Universidad de Puerto Rico.

<http://grad.uprm.edu/oeg/TesisDisertacionesDigitales/IndustriaPecuaria>

Rojo, R., G.D. Mendoza, S.S. González, L. Landois, R. Bárcena, and M.M. Crosby. 2005. Effects of exogenous amylases from *Bacillus licheniformis* and *Aspergillus niger* on ruminal starch digestion and lamb performance. *Anim. Feed Sci. Tech.* 123–124:655–665

Rosario, C. A. 2012. Efecto de la aplicación de inóculos microbianos sobre las características fermentativas, estabilidad aeróbica y consumo voluntario de ensilaje de gramíneas tropicales naturalizadas. Tesis de M.S. Universidad de Puerto Rico. <http://grad.uprm.edu/oeg/TesisDisertacionesDigitales/IndustriaPecuaria>

Russell, J. B. and D. B. Wilson. 1996. Why are ruminal cellulolytic bacteria unable to digest cellulose at low pH?. *J. Dairy Sci.* 79:1503-1509.

Salem, H. B. and T. Smith. 2008. Feeding strategies to increase small ruminant production in dry environments. *Small Rum. Res.* 77:174–194.

SAS Institute Inc. (1990). SAS/STAT 6. User's Guide. SAS Institute, Inc. Cary, NC.

Scott, P. 2008. Abortion in cattle. *NADIS Health Bulletin*.

Socol, C. R., L. P. Souza, M. R. Spier, A. B. Pedroni, C. T. Yamaguishi¹, J. D. Lindner, A. Pandey and V. T. Socol. 2010. The potential of probiotics: A review. *Food Technol. Biotechnol.* 48 : 413–434

Sun, P., J. Q. Wang, and H. T. Zhang. 2010. Effects of *Bacillus subtilis natto* on performance and immune function of preweaning calves. *J. Dairy Sci.* 93:5851–5855.

Taras, D., W. Vahjen, M. Macha, and O. Simon. 2006. Performance, diarrhea incidence, and occurrence of *Escherichia coli* virulence genes during long-term administration of a probiotic *Enterococcus faecium* strain to sows and piglets. *J. Anim. Sci.* 84:608-617.

Van Soest, P.J., J. B. Robertson, and B. A. Lewis. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J. Dairy Sci.* 74:3583-3597

Wang, Y., J.H. Cho, Y.J. Chen, J.S. Yoo, Y. Huang, H.J. Kim, and I.H. Kim. 2009. The effect of probiotic BioPlus 2B® on growth performance, dry matter and nitrogen digestibility and slurry noxious gas emission in growing pigs. *Livest. Sci.* 120 : 35–4

Wei, J. Z., K. Hala, L. Carta, E. Platzer, C. Wong, S. C. Fang, and R. V. Aroian. 2003. *Bacillus thuringiensis* crystal proteins that target nematodes. *PNAS* 100: 2760-2765

Wells, J. E. and J. B. Russell. 1996. Why do many ruminal bacteria die and lyse so quickly?. *J. Dairy Sci.* 79:1487-1495.

Whitley, N. C., D. Cazac, B. J. Rude, D. Jackson-O'Brien, and S. Parveen. 2009 a. Use of a commercial probiotic supplement in meat goats. *J. Anim.Sci.* 87:723-728.

Whitley, N. C., J.E. Miller, J.M. Burke, D. Cazaca, D.J. O'Brien, L. Dykes, and J.P. Muir. 2009 b. Effect of high tannin grain sorghum on gastrointestinal parasite fecal egg counts in goats. *Small Rum. Res.* 87:105–107.

Yazwinski, T. A., C.A. Tucker, J. Powell, J. Reynolds, P. Hornsby, and Z. Johnson. 2009. Fecal egg count reduction and control trial determinations of anthelmintic efficacies for several parasiticides utilizing a single set of naturally infected calves. *Vet. Parasit.* 164:232–241.