

# Consumo y digestibilidad de una dieta para corderos basada en henos de gramíneas tropicales y de *Hyparrhenia rufa* con un probiótico aportador de *Bacillus subtilis* y *Bacillus licheniformis*<sup>1</sup>

Abner A. Rodríguez<sup>2\*</sup>, Enrique M. Martínez<sup>3</sup>, Luis C. Solórzano<sup>4</sup>  
y Paul F. Randel<sup>5</sup>

J. Agric. Univ. P.R. 98(2):147-168 (2014)

## RESUMEN

Se realizó un experimento en 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 sobre el consumo voluntario (CV) y digestibilidad utilizando 10 corderos criollos. Los corderos 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 peso vivo (PV) en la materia seca (MS). El forraje consistió de 50% de heno de gramíneas tropicales naturalizadas [71.7% Fibra Detergente Neutra (FDN), 4.9% Proteína Bruta (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). Se suplió también 225 g diarios de concentrado comercial (CC). El aditivo se mezcló con el CC para suplir  $1.33 \times 10^9$  ufc/animal diariamente durante 49 días en P1. Del día 50 al 84 (P2) se suspendió el ofrecimiento del aditivo para determinar posibles efectos residuales de este. Se pesaron los corderos semanalmente. El CV y digestibilidad de la MS, FDN y PB se determinaron 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 FAMACHA<sup>®</sup> y hematocrito, se determinaron cada 21 días. Los datos por periodo experimental se analizaron según un diseño completamente aleatorizado con cinco repeticiones por tratamiento. Durante el P1, la ganancia en PV de los ovinos fue de 23 vs. 20 g/día 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),

<sup>1</sup>Manuscrito sometido a la Junta Editorial el 28 de febrero de 2014.

<sup>2\*</sup>Catedrático, Departamento de Ciencia Animal, Universidad de Puerto Rico, Recinto de Mayagüez. Autor para correspondencia.

<sup>3</sup>Ex Estudiante Graduado, Departamento de Ciencia Animal, Universidad de Puerto Rico, Recinto de Mayagüez.

<sup>4</sup>Catedrático Adjunto, Departamento de Ciencia Animal, Universidad de Puerto Rico, Recinto de Mayagüez.

<sup>5</sup>Catedrático, Departamento de Ciencia Animal, Universidad de Puerto Rico, Recinto de Mayagüez.

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). El CHH de los respectivos grupos testigo y con probiótico fue 820 vs. 1,380 huevos/g inicialmente y aumentó más ( $p < 0.05$ ) en el testigo a 2,390 vs. 2,780 huevos/g al día 21 y luego bajó a 1,830 vs. 1,480 huevos/g al día 42. Entre los días 0 y 42, el hematocrito cambió significativamente ( $p > 0.05$ ) de 24.4 a 17.9 en el testigo y de 20.6 a 22.6 en el grupo con probiótico. El nivel de anemia estimado por 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 de 1,230 y 440 huevos/g a los 84 días, 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 de 2.8 y 2.2 en los dos respectivos tratamientos. En resumen, la adición dietética del probiótico incentivó el CV y tendió a aumentar la digestibilidad de FDN, pero no afectó el crecimiento, aunque 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.

Palabras clave: especie invasora, valor nutritivo, probiótico

#### ABSTRACT

Intake and digestibility by lambs of a diet of tropical grass and *Hyparrhenia rufa* hays with a probiotic containing *Bacillus licheniformis* and *Bacillus subtilis*

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 on voluntary consumption (VC) and digestibility. Ten Creole lambs were randomly assigned to one of two treatments: control (without additive) or probiotic (with additive in diet). The basal diet consisted of a daily forage offering equal to 4% of live weight (LW) on a dry matter (DM) basis. The forage offered was 50% native grass hay [71.7% neutral detergent fiber (NDF), 4.9% crude protein (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 of commercial concentrate (CC) daily. The additive was mixed with the CC to supply  $1.33 \times 10^8$  cfu/head daily during the 49 days of P1. From day 50 to 84 (P2), the probiotic addition was suspended to determine possible residual effects. The lambs were weighed weekly. 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 egg 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 five replicas per treatment. During P1, the daily LW gain of the lambs was 23 vs. 20 g 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. 1,380 eggs/g initially and increased more in the control ( $p < 0.05$ ) to 2,390 vs. 2,780 eggs/g at day 21, then decreased less in this group to 1,830 vs. 1,480 eggs/g 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 control and previously probiotic treated groups was 48 g/d. Total DM intake was 587 vs. 562 g/d and 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 1,230 vs. 440 eggs/g, whereas 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 the probiotic in the diet improved VC and tended to increase NDF digestibility, but did not affect growth, even though there were signs of animal health benefiting. After suspending the use of the additive, no residual effect on the variables evaluated was observed.

**Key words:** invasive species, nutritive value, probiotics

## INTRODUCCIÓN

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 del sureste 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 han 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 permitiría aumentar la productividad de los animales (Giraldo et al., 2008). Además, ha surgido el problema de que terrenos cultivables han quedado invadidos por especies invasoras como la maleza *Hyparrhenia rufa* (hierba Jaragua), la cual compete 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).

El uso de diversos aditivos en la alimentación animal se ha convertido en práctica común. Los antibióticos y otros estimulantes de cre-

cimiento se utilizan rutinariamente en dietas para monogástricos no rumiantes y también en especies rumiantes como vacunos, ovinos y caprinos. La preocupación sobre el uso excesivo de estos aditivos con efectos secundarios negativos ha llevado a los investigadores a estudiar otros tipos de aditivos dietéticos como los probióticos (Laborde, 2008). 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). Entre los microorganismos más utilizados como probióticos en la dieta de operaciones pecuarias se encuentran las bacterias del género *Bacillus* (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 nematodos 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 han sido estudiados 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. Esta investigación se diseñó con los objetivos de: 1) evaluar el efecto de la adición dietética de un probiótico aportador de cepas de *Bacillus subtilis* y *B. licheniformis* sobre el consumo y digestibilidad de la dieta basada en henos de baja calidad y sobre el crecimiento y salud en corderos; 2) determinar el efecto residual de la inclusión del probiótico sobre las mismas variables; y 3) evaluar la inclusión de la invasora *Hyparrhenia rufa* en forma de heno en la dieta de corderos destetados.

## MATERIALES Y MÉTODOS

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. Se estudió el efecto de suministrar un probiótico en la dieta incluyendo 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 tuvo una duración de 84 días en adición a siete días preliminares.

### *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 se desparasitaron antes del

comienzo del experimento con una dosis oral del antihelmíntico de amplio espectro, Valbazen<sup>®6</sup> y se permitieron acostumbrarse a las instalaciones físicas y la dieta experimental sin probiótico durante siete días. Diariamente los animales se alimentaron con cantidades equivalentes al 4% del PV en base seca con una dieta basal de 50% heno de gramíneas tropicales (HGT) y 50% heno de la especie invasora *Hyparrhenia rufa* (HHR). El HGT 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 Subestación Experimental Agrícola de Lajas y se deshidrató al sol para luego ser trozada y ofrecida como heno. Además, se ofreció a cada ovino 225 g al día de CC peletizado. Los animales tuvieron libre acceso al agua. Muestras de los henos y el CC se recolectaron y analizaron 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, se analizaron en un laboratorio comercial para determinar el contenido de proteína bruta (PB), fibra detergente neutro (FDN) y fibra detergente ácido (FDA) (AOAC, 1990; Van Soest et al., 1991).

Los 10 corderos criollos se asignaron aleatoriamente a uno de los dos tratamientos. 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. 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 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 225 g de CC ofrecidos diariamente para proveer  $1.33 \times 10^8$  ufc/animal. Semanalmente durante ambos periodos, los corderos se pesaron, 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. Los datos semanales de PV permitieron calcular la ganancia en peso por semana, por día y total. Cada 21 días se determinó el efecto del suministro del probiótico y luego su efecto residual sobre la salud de los ovinos; para ello se monitoreó el nivel de anemia utilizando los dos

<sup>6</sup>Los nombres de compañías y de marcas registradas solo se utilizan para proveer información específica y su uso no constituye garantía por parte de la Estación Experimental Agrícola de la Universidad de Puerto Rico, ni endoso sobre otros productos o equipo que no se menciona.

indicadores, el método FAMACHA® y el de hematocrito, y el grado de parasitismo gastrointestinal (GI) por el CHH. 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. Para determinar el efecto de la adición del probiótico sobre el CHH, específicamente los huevos de *H. contortus*, se tomaron las muestras 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.

Para cuantificar el volumen de células rojas en la sangre, se colectó una muestra de sangre de la vena yugular de cada cordero utilizando una aguja de 20 x 1½ y un tubo plástico Vacutainer™ para hematología con K<sub>2</sub> EDTA pulverizado en las paredes para evitar la coagulación. Las muestras de sangre se colocaron inmediatamente en hielo hasta ser analizadas para determinar el porcentaje por volumen de células rojas. 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.

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 adición del probiótico en la dieta (días 42 al 49 del experimento) y el segundo durante la última semana de P2 (días 78 al 84 del experimento) en ausencia del aditivo. El consumo de cada alimento se determinó por diferencia al cuantificar lo ofrecido y lo rechazado. Para la recolección fecal se usaron bolsas recolectoras ajustadas a los animales. Diariamente durante los siete 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, se analizaron muestras compuestas de los forrajes ofrecidos y rechazados y las heces por ovino individual para determinar los contenidos de MS y las fracciones PB y FDN (AOAC, 1990; Van Soest et al., 1991).

Para determinar el efecto del suministro del probiótico y luego su efecto residual sobre el CV, digestibilidad de materia seca (DMS), proteína bruta (DPB), fibra detergente neutro (DFDN); PV y ganancia en

peso diaria (GPD); FAMACHA® y hematocrito; y CHH, los datos se analizaron individualmente para P1 y P2 según un diseño completamente aleatorizado con cinco repeticiones por tratamiento. Se utilizó para el análisis el modelo lineal general de SAS (1990).

**RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

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 HHR y el HGTN presentaron valores de PB menores a 6%, y valores altos de paredes celulares (FDN) y su fracción ligno celulolítica (FDA); mayores de 75% y 47% en el HHR y mayores de 71% y 37% en el HGTN, respectivamente. En otro experimento relacionado (Rivera, 2012), la especie invasora *H. rufa* se caracterizó por su bajo contenido de PB y alto contenido de paredes celulares, variando el contenido 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 HGTN tuvo un menor contenido de PB en P1 que en 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 periodos sucesivos (71.7 y 71.2%). Esta composición del HGTN se asemeja a las observadas en estudios previos donde el porcentaje de PB, FDN y FDA fue 6.05, 69.58 y 51.82, respectivamente (Rosario, 2012). El contenido nitrogenado del CC coincide con el mínimo garantizado por su fabricante (14% de PB).

El 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). La diferencia de 39 g representa una ventaja relativa de 9% a favor del tratamiento con probiótico. Los corderos que recibieron

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

| Componente (%) <sup>1</sup> | Periodo 1         |                  |                 | Periodo 2 |      |      |
|-----------------------------|-------------------|------------------|-----------------|-----------|------|------|
|                             | HGTN <sup>2</sup> | HHR <sup>3</sup> | CC <sup>4</sup> | HGTN      | HHR  | CC   |
| MS                          | 95.1              | 96.1             | 96.4            | 93.7      | 94.9 | 93.6 |
| PB <sup>5</sup>             | 4.9               | 3.5              | 15.9            | 5.4       | 5.5  | 16.9 |
| FDN <sup>5</sup>            | 71.7              | 78.8             | 38.0            | 71.2      | 75.6 | 35.5 |
| FDA <sup>5</sup>            | 37.2              | 47.1             | 15.7            | 43.1      | 53.0 | 17.0 |

<sup>1</sup>Media de tres repeticiones

<sup>2</sup>Heno de gramíneas tropicales naturalizadas

<sup>3</sup>Heno de *Hyparrhenia rufa*

<sup>4</sup>Concentrado Comercial

<sup>5</sup>Base seca

CUADRO 2.—Efecto del suministro de *Bacillus subtilis* y *B. licheniformis* sobre el consumo en base seca de corderos alimentados con HGTN y HHR (Periodo 1).

| Variable   | Tratamiento        |            |                  | p    |
|--|--------------------|------------|------------------|------|
|  | Control            | Probiótico | EEM <sup>1</sup> |      |
| Consumo de materia seca total (g/d)              | 445 b <sup>2</sup> | 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 total en relación al PV (%) | 3.72 y             | 4.00 z     | 0.09             | 0.07 |

<sup>1</sup>EEM = Error Estándar de la Media,

<sup>2</sup>a,b = Medias en la misma fila con letras diferentes difieren ( $p < 0.05$ ),

<sup>3</sup>y, z = Medias con letras diferentes en la misma fila difieren ( $p < 0.10$ ).

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%), comparado 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 por ciento (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 2, la diferencia entre tratamientos no fue significativa ( $p > 0.05$ ) y en solo un caso, el de la proporción de HGTN consumido como porcentaje del mismo heno ofrecido (49.62 vs. 45.71), hubo un relativo acercamiento a la significación ( $p < 0.11$ ). Esta diferencia entre tratamientos de 3.91 puntos porcentuales fue semejante a la diferencia análoga del HHR de 3.65 puntos porcentuales (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 HHR y menor de HGTN 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 porcentuales 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 *H. 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 establecidos por el National Research Council (NRC), edición de 2007 (Cuadro 3).

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) 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 utilizadas.

Durante el P2 que evaluó el efecto residual del probiótico, el CV de MS no se vio 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 4).

CUADRO 3.—Requerimientos nutricionales de corderos destetados según el NRC (2007).

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

CUADRO 4.—Efecto residual del suministro de *Bacillus subtilis* y *B. licheniformis* sobre el consumo en base seca de corderos alimentados con henos de HGTN y HHR (Periodo 2).

| Variable   | Tratamiento Previo   |            |                  | p    |
|--|----------------------|------------|------------------|------|
|  | Control              | Probiótico | EEM <sup>1</sup> |      |
| 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 <sup>2</sup> | 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 total en relación al PV (%) | 4.36                 | 4.07       | 0.18             | 0.30 |

<sup>1</sup>EEM = Error Estándar de la Media

<sup>2</sup>y, z = Medias con letras diferentes en la misma fila difieren ( $p < 0.10$ )

Tampoco se detectó efecto residual significativo del suministro previo del probiótico sobre los otros criterios de consumo considerados en el experimento, aunque se acercó ( $p < 0.10$ ) en el caso del consumo de HGTN como porcentaje del mismo ofrecido, no obstante la pequeña diferencia media de 1.39 puntos porcentuales (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 HHR y mayor de HGTN que los animales testigos (20.85% vs. 27.08% y 79.15% vs. 72.92%, respectivamente). Ambos grupos consumieron más HHR en P2 que previamente. También la proporción de concentrado en la MS total consumida disminuyó 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 3). Estos resultados demuestran que la adición dietética del probiótico sobre el CV de corderos en crecimiento no perduró como efecto residual en P2.

### 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

CUADRO 5.—*Efecto de la inclusión dietética de Bacillus subtilis y B. licheniformis sobre la digestibilidad en corderos alimentados con HGTN y HHR (Periodo 1).*

| Digestibilidad Aparente (%) | Tratamiento          |            |                  | p    |
|-----------------------------|----------------------|------------|------------------|------|
|                             | Control              | Probiótico | EEM <sup>1</sup> |      |
| 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 <sup>2</sup> | 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 |

<sup>1</sup>EEM = Error Estándar de la Media

<sup>2</sup>y, z = Medias con letras diferentes en la misma fila difieren (p < 0.10)

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 podría ser evidencia indirecta de que las bacterias del probiótico no colonizaron el tracto. En ausencia de

CUADRO 6.—*Efecto residual de la inclusión dietética de Bacillus subtilis y B. licheniformis sobre la digestibilidad en corderos alimentados con HGTN y HHR (Periodo 2).*

| Digestibilidad Aparente (%) | Tratamiento Previo |            |                  | p    |
|-----------------------------|--------------------|------------|------------------|------|
|                             | Control            | Probiótico | EEM <sup>1</sup> |      |
| 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 |

<sup>1</sup>EEM = Error Estándar de la Media

un efecto residual de la adición previa del probiótico, se puede considerar que en P2 ambos grupos de corderos estuvieron sometidos al mismo tratamiento; esto aplica aproximadamente al grupo testigo en P1 también. Los tres valores de DMS correspondientes son consistentes (59.98 en P1; 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; 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 (225 g/d), la dieta basal fue de una calidad nutricional razonable. Cassida et al. (1994) observaron que en ovinos el % 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.

En otras investigaciones la adición de probióticos en la dieta ha logrado una respuesta positiva sobre la digestibilidad (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 en vez de 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 podría 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 probiótico 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 vio afectada 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 se requiere

una continua adición de las bacterias del género a la dieta para lograr su efectividad. 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).

En este experimento se evaluó en P1 el efecto del suministro en la dieta de un probiótico y en P2 el efecto residual de este sobre la ganancia en peso de ovinos criollos recién destetados. Durante la adición dietética del probiótico por los primeros 49 d 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 1). Los dos grupos perdieron peso durante la primera semana; 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 2). 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

CUADRO 7.—Efecto de la inclusión dietética de la dieta de *Bacillus subtilis* y *B. licheniformis* sobre la ganancia en peso total, semanal y diaria de corderos alimentados con HGTN y de HHR (Periodo 1).

| Variable              | Tratamiento         |            | EEM <sup>1</sup> | p    |
|-----------------------|---------------------|------------|------------------|------|
|                       | Control             | Probiótico |                  |      |
| Peso inicial (kg)     | 11.0 y <sup>2</sup> | 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 |

<sup>1</sup>EEM = Error Estándar de la Media

<sup>2</sup>y,z = Medias en la misma fila con letra diferente difieren ( $p < 0.10$ )

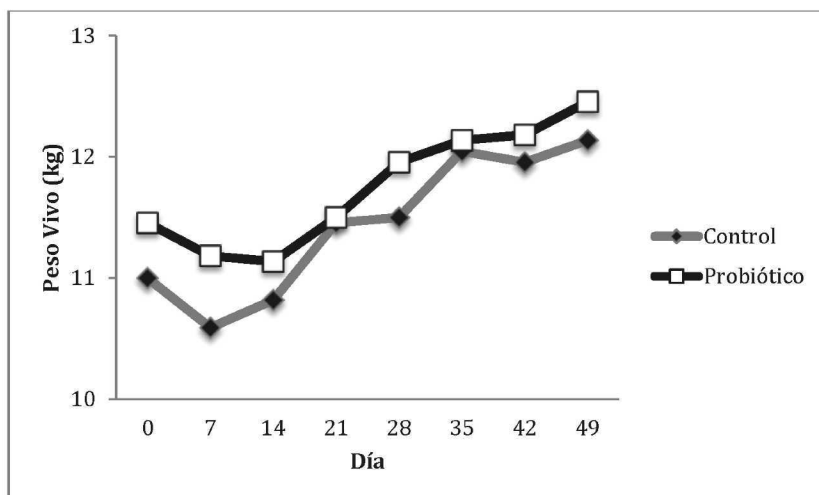


FIGURA 1. Efecto de la inclusión dietética de de *Bacillus subtilis* y *B. licheniformis* sobre el cambio en PV de corderos alimentados con HGTN y de HHR.

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, 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

CUADRO 8.—Efecto residual de la inclusión dietética de *Bacillus subtilis* y *B. licheniformis* sobre la ganancia en peso total, semanal y diaria de corderos alimentados con HGTN y HHR (Periodo 2).

| Variable              | Tratamiento Previo |            | EEM <sup>1</sup> | 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 |

<sup>1</sup>EEM = Error Estándar de la Media

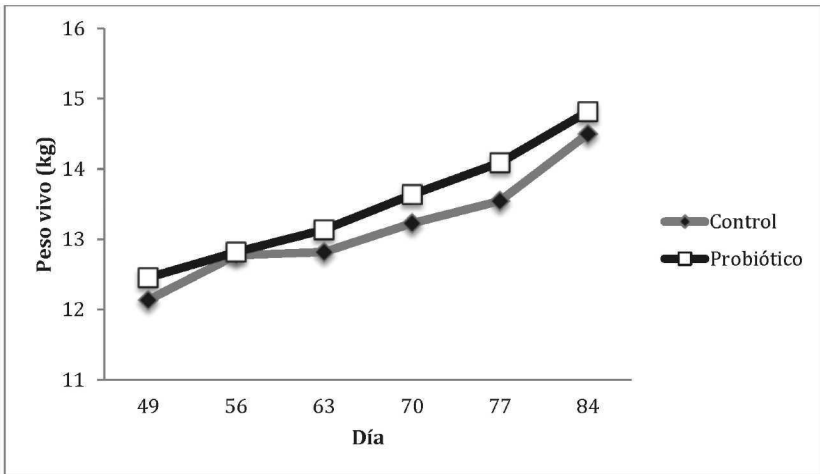


FIGURA 2. Efecto residual del suministro como parte integral de la dieta de *Bacillus subtilis* y *B. licheniformis* sobre el cambio en PV de corderos alimentados con HGTN y HHR.

vio afectado por la adición de un probiótico dietético conteniendo diferentes bacterias y enzimas producidas por *Bacillus subtilis* durante 56 días (Whitley et al., 2009). 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). Ejemplos de estos resultados existen también en experimentos con animales no rumiantes. El uso de 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* se evaluaron 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 se 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 las observadas en el presente experimento de 0.023 y 0.020 kg/día sin y con el probiótico en la dieta basada en HGTN 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 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. 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; 57 y 58 g en P2). Aunque los animales hubieran tenido la capacidad de consumir la dieta ofrecida en su totalidad (Cuadros 5 y 6), esta no aportaría la cantidad de proteína requerida teóricamente.

Un CHH mayor de 800 huevos/g se considera un grado de infestación parasítica alto (Morales et al., 2010). Durante el transcurso del P1 los conteos 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 (1,380 vs. 820 huevos/g). Después de 21 y 42 días del experimento en ambos grupos se observó 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 que no lo consumieron (1,400 vs. 1,570 huevos/g). A pesar de una mayor diferencia entre ambos tratamientos en los respectivos cambios del día 21 al 42 (1,300 vs. 560 huevos/g), esta diferencia 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. 1,010 huevos/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 (1,830 vs. 1,480 huevos/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 huevos/g), mientras que el grupo testigo terminó el experimento con un conteo de 1,230 huevos/g



CUADRO 9.—*Efecto de la inclusión dietética de Bacillus subtilis y B. licheniformis sobre CHH (huevos/g) en corderos alimentados con HGTN y HHR (Periodo 1).*

| Día | Cambio | Tratamiento          |            |                  | p    |
|-----|--------|----------------------|------------|------------------|------|
|     |        | Control              | Probiótico | EEM <sup>1</sup> |      |
| 0   |        | 820                  | 1,380      | 340              | 0.28 |
|     | 21-0   | 1,570 a <sup>2</sup> | 1,400 b    | 531              | 0.05 |
| 21  |        | 2,390                | 2,780      | 611              | 0.20 |
|     | 42-21  | -560                 | -1,300     | 601              | 0.76 |
| 42  |        | 1,830                | 1,480      | 467              | 0.28 |
|     | 42-0   | 1,010                | 100        | 603              | 0.32 |

<sup>1</sup>EEM = Error Estándar de la Media

<sup>2</sup>a,b = Medias con letras diferentes en la misma fila difieren (p < 0.05)

(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 (Soccol et al., 2010). Otra postulación es que ciertas proteínas cristalinas producidas por

CUADRO 10.—*Efecto residual de la inclusión dietética de Bacillus subtilis y B. licheniformis sobre CHH (huevos/g) en corderos alimentados con HGTN y HHR (Periodo 2).*

| Día | Cambio | Tratamiento Previo |            |                  | p    |
|-----|--------|--------------------|------------|------------------|------|
|     |        | Control            | Probiótico | EEM <sup>1</sup> |      |
| 42  |        | 1,830              | 1,480      | 467              | 0.28 |
|     | 63-42  | -560               | -470       | 1,085            | 0.89 |
| 63  |        | 1,270              | 1,010      | 1,275            | 0.76 |
|     | 84-63  | -40                | -570       | 1,017            | 0.43 |
| 84  |        | 1,230              | 440        | 1,042            | 0.27 |
|     | 84-42  | -600               | -1,040     | 761              | 0.38 |

<sup>1</sup>EEM = Error Estándar de la Media

bacterias del género *Bacillus*, que se está utilizando para el control de nematodos, afectan la constricción y el adelgazamiento de las células intestinales de los gusanos impartiendo a estos una apariencia degenerativa cuando consumen estas bacterias (Wei et al., 2003). Semejante efecto nematocida podría resultar en una disminución en el CHH. Es claro que se precisan más investigaciones para dilucidar los mecanismos de acción de cepas bacterianas que componen el probiótico y su posible efecto antiparasítico.

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 en 24.4% mientras que el del 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 cau-

CUADRO 11.—Efecto de la inclusión dietética de *Bacillus subtilis* y *B. licheniformis* sobre el hematocrito en corderos alimentados con HGTN y HHR (Periodo 1).

| Día | Cambio | Tratamiento |            | EEM <sup>1</sup> | 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 |

CUADRO 12.—Efecto residual de la inclusión dietética de *Bacillus subtilis* y *B. licheniformis* sobre el hematocrito en corderos alimentados con HGTN y HHR (Periodo 2).

| Día | Cambio | Tratamiento Previo |            | EEM <sup>1</sup> | 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 |

<sup>1</sup>EEM = Error Estándar de la Media

san pérdida de células rojas del hospedero. Al-Saiady (2010) 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.

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 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 (Cuadro 13). 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 no significativa ( $p > 0.05$ ) a favor del segundo (Cuadro 14). Al igual que el hematocrito, el nivel de este otro indicador de anemia está correlacionado con el parasitismo por nematodos 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.

## CONCLUSIONES

La adición del probiótico aportador de cepas de las bacterias *Bacillus subtilis* y *B. licheniformis* en la dieta de corderos alimentados con henos de GTN y de *H. rufa* y un suplemento de alimento concentrado

CUADRO 13.—Efecto de la inclusión de *Bacillus subtilis* y *B. licheniformis* sobre el nivel de anemia según el método FAMACHA® en corderos alimentados con HGTN y HHR de (Periodo 1).

| Día | Cambio | Tratamiento |            |                  | p    |
|-----|--------|-------------|------------|------------------|------|
|     |        | Control     | Probiótico | EEM <sup>1</sup> |      |
| 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 |

<sup>1</sup> EEM = Error Estándar de la Media

resultó en un mayor ( $p < 0.05$ ) consumo diario de MS total y digestibilidad de la fracción fibrosa del alimento, pero no mejoró significativamente los parámetros indicativos de parasitismo interno ni anemia. No se observó un efecto residual sobre la ganancia en peso, consumo de MS, ni en la digestibilidad de MS, PB y FDN. Se notó una tendencia favorable al uso previo del probiótico para reducir el CHH pero no a cambiar el hematocrito ni los valores de FAMACHA®

#### LITERATURA CITADA

- 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.
- A.O.A.C. (Association of Official Analytical Chemists), 1990. Official methods of analysis, 13th ed. Washington, D. C.

CUADRO 14.—Efecto residual de la inclusión dietética de *Bacillus subtilis* y *B. licheniformis* sobre el nivel de anemia según el método FAMACHA® en corderos alimentados con HGTN y HHR (Periodo 2).

| Día | Cambio | Tratamiento Previo |            |                  | p    |
|-----|--------|--------------------|------------|------------------|------|
|     |        | Control            | Probiótico | EEM <sup>1</sup> |      |
| 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 |

<sup>1</sup> EEM = Error Estándar de la Media

- Bargo, F., L. D. Muller, E. S. Kolver y J. E. Delahoy, 2003. Invited Review: Production and digestion of supplemented dairy cows on pasture. *J. Dairy Sci.* 86:1-42.
- 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 y 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.
- Cassida, K. A., B. A. Barton, R. L. Hough, M. H. Wiedenhoeft y 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 y 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 y 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.
- Giraldo, L. A., M. L. Tejido, M. J. Ranilla, S. Ramos y 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. y 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 y 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 y S. M. Cutting, 2005. The use of bacterial spore formers as probiotics. *FEMS Microbiol. Rev.* 29:813-835.
- Jenny, B. F., H. J. Vandijk y 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 y 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 y N. Mukhtar, 2011. Probiotics and lamb performance: A review. *African J. Agri. Res.* 6:5198-5203.
- Kornegay, E. T. y 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.
- Kritas, S. K., A. Govaris, G. Christodouloupoulos y 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.
- Miller, D. R., R. Elliott y 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 y 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 y G. Q. Zhu, 2009. The potencial benefits of probiotics in animal production and health. *J. Anim. Vet. Adv.* 8:313-321.
- NRC, 2007. Nutrient Requirements of Small Ruminants; Sheep, Goats, Cervids, and New World Camelids. The National Academic Press, Washignton, D.C.
- 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, y 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>.
- SAS Institute Inc., 1990. SAS/STAT 6. User's Guide. SAS Institute, Inc. Cary, NC.
- Socol, C. R., L. P. Souza, M. R. Spier, A. B. Pedroni, C. T. Yamaguishi1, J. D. Lindner, A. Pandey y V. T. Socol., 2010. The potential of probiotics: A review. *Food Technol. Biotechnol.* 48:413-434.
- Sun, P., J. Q. Wang y H. T. Zhang. 2010. Effects of *Bacillus subtilis natto* on performance and immune function of preweaning calves. *J. Dairy Sci.* 93:5851-5855.
- Van Soest, P. J., J. B. Robertson y 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 y 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: 35-42.
- Wei, J. Z., K. Hala, L. Carta, E. Platzer, C. Wong, S. C. Fang y R. V. Aroian, 2003. *Bacillus thuringiensis* crystal proteins that target nematodes. *PNAS* 100: 2760-2765.
- Whitley, N. C., D. Cazac, B. J. Rude, D. Jackson-O'Brien y S. Parveen, 2009. Use of a commercial probiotic supplement in meat goats. *J. Anim.Sci.* 87:723-728.