

Ministerio de Educación Superior
Universidad de Guantánamo

MAESTRÍA EN DESARROLLO AGRARIO SOSTENIBLE

Mención: Gestión para el desarrollo Local Sostenible

Efecto del Biolac y el fermentado de calabaza en parámetros productivos y de salud de precebas porcinas

**Tesis presentada en opción al título académico de
Master en Ciencias**

Rafael Medina González

2020
“Año 62 de la Revolución”

Ministerio de Educación Superior
Universidad de Guantánamo

MAESTRÍA EN DESARROLLO AGRARIO SOSTENIBLE

Mención: Gestión para el desarrollo Local Sostenible

*Efecto del Biolac y el fermentado de calabaza en parámetros
productivos y de salud de precebas porcinas*

**Tesis presentada en opción al título académico de
Master en Ciencias**

***Autor:** Ing. Rafael Medina González*

***Tutor:** Dr. C. Abel Ortiz Milán*

2020
“Año 62 de la Revolución”

RESUMEN

Con el objetivo de evaluar al probiótico Biolac y el fermentado de calabaza como alimentos alternativos en precebas porcinas y controlar los trastornos entéricos fueron realizados dos experimentos independientes, en los que se utilizaron 30 cerdos en preceba del Híbrido Yorkshire x Landrace. Con el uso del Biolac se incrementó significativamente en las precebas el peso vivo final, la ganancia de peso (20.3 y 21.6 kg) y la ganancia media diaria (483 y 514 g/día), otros de los indicadores que se mejoró fue la ocurrencia de diarrea y las muertes. En el segundo experimento se utilizó un control 100 % pienso convencional y se sustituyó el 15 y el 30% de este por fermentado de calabaza (FC); obteniéndose para el peso vivo final 27.30; 28.00 y 27.50 kg, la ganancia media diaria 483; 502 y 488 g/día, el consumo de materia seca 30.37; 30.38 y 30.33 kg y la conversión de la materia seca 1.50; 1.44 y 1.48 kg MS/kg PV respectivamente; no se presentó diferencias significativas entre los tratamientos evaluados; sin embargo en el control hubo mayor cantidad de animales con diarreas y la mortalidad alcanzó el 10 %; mientras que en los tratamientos con FC el índice de diarrea fue mínimo y la muerte nula. Se concluye que el uso del Biolac mejora significativamente los indicadores productivos, reduce las ocurrencias de diarreas y evita las muertes, mientras que el fermentado de calabaza permite la sustitución parcial de alimentos convencionales, reduce las ocurrencias de diarreas y evita las muertes.

Palabras claves: Biolac, fermentado de calabaza, cerdos, producción, salud.

ABSTRACT

For the sake of evaluating the Biolac Probiotic and pumpkin fermentation as alternative foods in Porcine Pre-fat and controlling enteric disorders, two independent experiments were carried out. In both, 30 pigs were used in prebreeding of the Yorkshire x Landrace Hybrid, with an average weight of 7 kg, for 42 days, coinciding between 33 to 76 days of age, according to a completely randomized design, each animal constituted a repetition as the treatments for each experiment. With the use of Biolac, the final live weight (27.30 and 28.60 kg without Biolac and with Biolac respectively), weight gain (20.3 and 21.6 kg) and the average daily gain (483) increased significantly ($P < 0.05$) and 514 g / day), other indicators that improved were the occurrence of diarrhea and deaths where these indicators were superior to the control treatment.

In the second experiment, a 100% conventional feed control was used and 15 and 30% of this were replaced by pumpkin fermentation (FC); obtaining for the final live weight 27.30; 28.00 and 27.50 kg, the average daily gain 483; 502 and 488 g / day, the consumption of dry matter 30.37; 30.38 and 30.33 kg and the conversion of dry matter 1.50; 1.44 and 1.48 kg DM / kg PV respectively; there were no significant differences between the treatments evaluated; however in the control there were more animals with diarrhea and mortality reached 10%; while in the treatments with FC the index of diarrhea was minimal and the death null. It is concluded that the use of Biolac in pre-fattening pigs significantly improves productive indicators, while reducing occurrences of diarrhea and avoiding deaths, while pumpkin fermentation allows partial replacement of conventional foods, reduces occurrences of diarrhea and avoid deaths.

Keywords: Biolac, fermented pumpkin, pigs, production, health.

ÍNDICE

I. INTRODUCCIÓN	1
II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	6
2.1. Generalidades sobre la producción animal.....	6
2.2. Situación y perspectiva de la producción porcina en el mundo...7	
2.3. Situación y perspectiva de la producción porcina en Cuba.	8
2.4. Probióticos como alternativa viable para disminuir el uso de antibióticos.....	10
2.5. Generalidades de los probióticos.	11
2.6. Generalidades sobre la fisiología digestiva del cerdo.....	16
2.7. Microbiología del tracto intestinal de los cerdos.	18
2.8. Importancia del cultivo de la calabaza (Cucúrbita pepo)	24
2.9. Fermentación.....	28
III. MATERIALES Y METODOS	32
IV. RESULTADOS Y DISCUSION	41
V. CONCLUSIONES.....	60
VI. RECOMENDACIONES	61
VII. BIBLIOGRAFÍA	62

I. INTRODUCCIÓN

La creciente demanda de proteína de origen animal con destino al consumo humano, genera gran interés en la producción de animales de rápido crecimiento y corto intervalo generacional (Anyà *et al.*, 2011). En este propósito el cerdo es un elemento clave dentro de la producción pecuaria. Esto se debe a su capacidad de adaptación a diferentes sistemas de manejo y alimentación, su alta prolificidad y la variedad de productos que proporciona (Camejo, 2013). Además, la carne de cerdo se considera uno de los alimentos más completos para satisfacer las necesidades de proteína para la población, por ser una fuente estable y con efectos positivos en la salud humana (Roppa, 2006), lo que contribuye a la seguridad alimentaria.

La sociedad actual debe enfrentar uno de sus mayores desafíos: la erradicación del hambre y la desnutrición, lo que está implícito en el primer objetivo de desarrollo del milenio de la FAO, puesto que el número de personas que sufren hambre crónica en el mundo, es inaceptablemente elevado. Se estima que en el período 2011-2013 fue de 842 millones (FAO, FIDA y PMA 2013). Objetivo que se lograría con la mejora de la productividad agrícola y los ingresos, así como el fomento de mejores prácticas nutricionales. Es necesario impulsar el desarrollo de la ciencia hacia la búsqueda activa de nuevos enfoques de producción que garanticen mayor eficiencia para enfrentar los crecientes problemas de seguridad alimentaria en los países pobres (FAO, 2012).

El sector porcino ha sufrido una gran evolución en los últimos años. Estos cambios han incidido de forma notoria sobre los sistemas de explotación y las técnicas de producción. El objetivo final de esta actividad ganadera es optimizar al máximo la productividad y elevar paulatinamente la oferta de carne en el mercado en comparación con la de otras especies de animales domésticos.

A pesar de los avances obtenidos, las condiciones socioeconómicas y tecnológicas de los países en vía al desarrollo no permiten una producción animal

que sea sostenible, si se siguen los parámetros impuestos por los modelos productivos transferidos de los países desarrollados.

El reto actual, para el sector ganadero y la industria de piensos compuestos, es conseguir hacer rentables sistemas de producción más extensivos, que no hagan totalmente necesario el uso de los alimentos convencionales que podían suponer un mayor costo de producción e impacto negativo al medio ambiente, para ello el uso de productos naturales, nuevos y sin riesgo podría constituir la solución en los tiempos que corren (Martín, 2008).

A raíz del uso de los cereales como fuentes de biocombustibles, estos incrementaron su costo en un 10 % en el mercado mundial, lo que trae como resultado la imposibilidad de su compra por parte de aquellos países con economías desfavorecidas (FAO, 2012). Sostener una alimentación a base de concentrado comercial, no sólo para cerdos sino para otras especies animales es muy difícil, por lo que es apremiante la búsqueda de nuevas alternativas de alimento con este fin. De ahí que el principal problema que en la actualidad enfrenta la ganadería en el mundo, es el aseguramiento alimentario para las distintas especies de animales económicamente útiles al hombre, entre ellos los cerdos.

Por estas razones, diferentes institutos de investigaciones agropecuarias y universidades en Cuba, se dedican a la búsqueda continua de fuentes alternativas de alimentos, a las que se les pudiera incrementar su valor nutricional en cuanto a energía, proteína y reducir sus limitantes nutricionales a través de la fermentación en estado sólido (FES) con el objetivo de sustituir al máximo posible los niveles de inclusión de maíz y soya, con la disminución del costo de producción y la dependencia de importaciones (Rodríguez, 2004; Ramos, 2005 y Díaz, 2014).

El uso exclusivo de alimentos convencionales en la ceba de cerdos repercute en los altos costos de producción, determinado fundamentalmente por la importación de alimentos, ya que la producción de cerdos está muy relacionada con la utilización de alta tecnología, volúmenes de cereales y fuentes proteicas que, por

lo general, no se producen en cantidades suficientes en los países subdesarrollados. Ello genera fuerte dependencia de materias primas extranjeras (Figueroa, 1996).

En las condiciones actuales de la producción porcina, donde las pequeñas fincas del campesino ocupan un papel relevante, se hace necesario realizar ajustes en las tecnologías de producción que se han aplicado en etapas anteriores. Estas tecnologías no pueden sustentarse en la importación de cereales, se debe disponer de una base alimentaria nacional que respalde el propósito del Ministerio de la Agricultura para incrementar la producción de carne de cerdo en Cuba de forma significativa en los próximos años (Martín, 2008).

Otro elemento importante es el referido al bienestar animal en el sector porcino, ya que este no se resume en una mera cuestión práctica para mejorar la salud de los animales y aumentar la productividad, es también una cuestión ética, ya que el bienestar de los cerdos es responsabilidad de los productores. La percepción del bienestar animal varía según la cultura, pero las investigaciones recientes sobre el comportamiento de los animales de granja han fijado criterios de bienestar animal más objetivos y mensurables (WHO 2002).

Casula y Cutting (2002), plantean que la productividad y salud animal está ligada a la existencia o no de microorganismos patógenos en su tracto digestivo. Hasta muy recientemente, el uso de promotores de crecimiento de tipo antibiótico ayudaba a controlar el crecimiento de estos microorganismos patógenos y a mantener un equilibrio deseable en la flora intestinal. La prohibición o restricción de uso de muchos de estos aditivos ha llevado a la búsqueda de nuevas alternativas entre las cuales se encuentran los probióticos.

El concepto del uso de los microorganismos que ayudan a la digestión, absorción y aprovechamiento de nutrientes y a la integridad y desarrollo de la mucosa intestinal ha sido una inquietud científica y práctica tanto en el hombre como en los animales (Rodríguez *et al.*, 2015 y Gómez y Ortiz, 2015). De ahí que los ensayos dirigidos a diagnosticar sustancias con efectos probióticos y que sustituyan los ya

conocidos costosos para los países en desarrollo, es esencial para la producción porcina Cubana, como también se puede aprovechar los beneficios que brindan cultivos como la calabaza (Cucúrbita pepo). En la provincia de Guantánamo se producen anualmente alrededor de 7355.3 toneladas, sin embargo nunca en la literatura consultada se refiere a su uso como alimento en cerdos, de ahí que en la presente tesis se plantea como problema los siguientes.

Problema

Elevado costo y baja disponibilidad de los alimentos convencionales para la alimentación porcina, al tiempo que no se aprovechan los alimentos alternativos de producción local, por escaso conocimiento o tecnologías que promuevan su uso y conservación como alimento en esta especie, que contribuyan al incremento de los indicadores bioproductivos y el control de los trastornos entéricos.

Objeto de estudio

Uso de bioproductos como alimento en la explotación porcina.

Campo de acción

Producto Biolac y fermentado de calabaza como alimentos en precebas porcinas y control de trastornos entéricos.

Hipótesis

Con la producción y uso del producto Biolac y el fermentado de calabaza en la dieta de cerdos en preceba según especie y medio de producción, se podrían incrementar indicadores productivos, reducir las incidencias de diarreas, al tiempo que se podrán reducir los costos de producción.

Objetivo general

Evaluar el efecto del producto Biolac y el fermentado de calabaza como alimentos de cerdos en preceba.

Objetivos específicos

1. Determinar el comportamiento de los indicadores bioproductivos de cerdos en preceba alimentados con dietas que incluyan Biolac y fermentado de calabaza.
2. Evaluar la efectividad del producto Biolac y del fermentado de calabaza en el control de trastornos entéricos de cerdos en preceba.
3. Valorar el impacto económico asociado al uso del producto Biolac y el fermentado de calabaza en los parámetros productivos de los cerdos en preceba.

Novedad Científica

1. Se caracteriza por primera vez la concentración microbiana del producto Biolac y su efecto funcional como alimento en cerdos en preceba.
2. Se informa la composición bromatológica de un nuevo alimento obtenido a través de la FES de la calabaza (Cucúrbita pepo) y su efecto en cerdos en preceba.

Aporte Científico

1. Se establece el Biolac como un inóculo con efecto funcional que mejora el metabolismo digestivo y la salud de cerdos en preceba.
2. Se demuestra que la FES de la calabaza incrementa su valor nutritivo y reduce las importaciones de alimentos concentrados.

Importancia teórica

Se dispone de información científica novedosa sobre la concentración y efectos de los nuevos alimentos funcionales (Biolac y fermentado de calabaza) como mejoradores de la salud y producción porcina, así como su impacto económico en la sustitución de importaciones.

Importancia práctica

La producción local de alimentos alternativos (Biolac y fermentado de calabaza) quienes contribuyen a reducir las limitaciones alimentarias para la producción de

carne porcina con independencia de los costosos piensos concentrados importados.

II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1. Generalidades sobre la producción animal.

La explotación de sistemas intensivos de producción animal se caracteriza por una alta productividad, lo que hace que surjan alteraciones en el comportamiento animal y por ende repercute en el sistema inmunológico, propiciando con mayor frecuencia la aparición de enfermedades, trayendo consigo una disminución considerable de los niveles productivos. Por muchos años los antibióticos fueron utilizados para contrarrestar esta situación (Carro y Ramilla, 2005), sin embargo, en estas sustancias se comprobó que crean resistencia microbiana, son inmunodepresoras y tienen efectos residuales en los productos finales como, carne, (Pérez, 2000; Piad, 2001; Brizuelas, 2003; Martínez, 2004; Pérez, 2005).

Los aditivos juegan un papel importante ya que tienen la ventaja de ser productos naturales que fortalecen el sistema inmunológico, mejoran la productividad del cerdo y no dejan residuales perjudiciales en los productos finales. Bajo estas premisas, se abren nuevas oportunidades en la industria alimentaria para el desarrollo y la investigación de sustancias naturales que pudieran emplearse en la alimentación animal (Griggs y Jacob, 2005).

Durante estas últimas dos décadas han surgido un conjunto de productos que no crean problemas de resistencia microbiana o efecto residual que producen los antibióticos, estos se han agrupado, genéricamente, bajo la denominación de probióticos, los cuales pueden ser microorganismos o sustancias que contribuyen a mantener un equilibrio ecológico favorable en el intestino y un buen funcionamiento del sistema inmunitario. En este contexto es que comienza a valorarse los probióticos como aditivos alimentarios que cumplen los requisitos básicos de los antibióticos, pero además son inmuno estimulantes y no crean efectos residuales en los productos finales (Bengmark y Lucchini, 1998).

El desarrollo de la producción animal en zonas montañosas cubanas es un imperativo para cubrir la creciente demanda de alimentos de la población,

desarrollo que debe evolucionar sobre bases sostenibles, con un uso eficiente de los recursos propios de la región, procurando el empleo de alternativas tecnológicas sencillas y factibles que respondan a las condiciones ecológicas, económicas y sociales de los ecosistemas (Morgan, 2003).

El auge de la producción porcina competitiva, se estructura fundamentalmente sobre las bases de una genética aplicada al mejoramiento de las poblaciones raciales mediante una intensa selección hacia la mejora de rasgos de moderada o alta heredabilidad, como el crecimiento, conversión alimentaria y caracteres de la canal, en interrelación con el medio ambiente y la nutrición (Benito, 1996).

2.2. Situación y perspectiva de la producción porcina en el mundo.

La mayor proporción de proteína de origen animal para consumo humano, la aporta el grupo de las carnes rojas (50-60%) a nivel mundial. Sin embargo, los niveles de producción de este tipo de carne y en especial la carne del cerdo están concentrados en países desarrollados. Europa con un cuarto de la población mundial y un 46% de tierra cultivable del planeta, produce dos veces más que el resto del mundo. Alemania, por ejemplo, produce la misma cantidad de carne de cerdo al año que toda Latinoamérica, en el mismo lapso de tiempo (ACOMVEC, 1996).

En la tendencia de la demanda mundial de proteína de origen animal, el cerdo se plantea como la carne de elección (Gree, 1998), con un 44% del consumo global. Esta situación implica un gran reto para los productores y en especial, para aquellos que tienen la alta responsabilidad de lograr pies de cría con alto potencial genético (Álvarez, 1999).

En el 2003 había en China 464 millones de cerdos y se sacrificaron 577 millones, esto corresponde al 47% de la producción mundial. Una parte importante de la cría porcina en China se realiza como producción de traspatio. La mayor parte de las fuentes consultadas indican que la mitad de los cerdos producidos es en este

tipo de sistema. Solo el 10% de las tierras en China son adecuadas para la agricultura y tienen que alimentar el 22% de la población mundial empleando solo el 7% de la tierra agrícola del mundo (Wilfried, 2004).

El total de cerdos en Canadá llegó a 14,4 millones en el 2002. La mayoría de los cerdos se crían en granjas familiares, la ventaja de Canadá en la producción porcina es el bajo costo del alimento. Canadá depende de las exportaciones. De la producción porcina canadiense el 45% se exporta a más de 90 países, de la que el 65% va a Estados Unidos, Canadá y Europa compiten principalmente en el mercado japonés (Wilfried, 2004).

2.3. Situación y perspectiva de la producción porcina en Cuba.

Ha quedado atrás el criterio de que los cerdos fueron introducidos por los españoles en el archipiélago cubano. Aquellos animales, muy probablemente cerdos ibéricos (Velázquez *et al.* 1998; Pérez Bonilla, 2000; Rico *et al.* 2000), se multiplicaron tanto en forma extensiva por toda la colonia, que los mismos españoles tuvieron que traer perros feroces para cazar los descendientes de los animales originales, convertidos cada vez más en cerdos criollos, por el daño que hacían a las cosechas (Moreno, 1978). También se ha dicho que a su propagación contribuyó la ausencia de algún predador natural, y a que estos cerdos aprovechaban para su consumo el uso de todo tipo de nueces, raíces, hierbas y frutas caídas que podían hallarse fácilmente en regiones boscosas, sin embargo (Velázquez, *et al.* 1998) han asumido que estos animales no interferían en otras actividades del hombre en esa época.

Ya a mediados del siglo XX, se introducen esporádicamente cerdos de razas llamadas mejoradas, como la Yorkshire, la Landrace, la Duroc y la Hampshire. Sin embargo, en ninguna circunstancia los cerdos se criaban en aquel entonces en sistemas modernos de producción intensiva.

En Cuba el ganado porcino representa una especie de gran significado social como fuente de abastecimiento de alimento proteico para la especie humana y

como generadora de fuentes de trabajo. Considerando la explotación porcina como una industria que cada día trata de tecnificarse con miras a disminuir los costos de producción y obtener mayores rendimientos, es necesario incrementar la investigación científica en esta dirección (Pérez y Muñoz, 1991).

La investigación porcina se ha orientado especialmente hacia la genética y nutrición animal, campos de gran importancia en la producción para alcanzar niveles satisfactorios de rendimiento. Con la finalidad de impulsar el desarrollo de la producción porcina en Cuba.

Desde 1997 hasta el presente Cuba se ha caracterizado por el incremento del turismo, lo cual implicó la necesidad de producir determinados volúmenes de carne de cerdo con calidad superior para ese sector de la economía nacional, obtenidos en unidades especializadas para ese destino de la producción. En ellas se controla alrededor de un 25% del rebaño de cerdas reproductoras, destinándose el resto de los animales al balance cárnico nacional, mediante su producción en el sistema comercial.

En esta etapa también reaccionaron como base productiva, otras formas de producción como las Unidades Básicas de Producción Cooperativa (UBPC), las Cooperativas de Producción Agropecuaria (CPA) y las Cooperativas de Créditos y Servicios (CCS). Como ilustración, (Álvarez, 2001) ha señalado que el sector cooperativo cubano contribuyó en 1998 con el 37% de la producción de carne de cerdo en pie; esto sin tener en cuenta la carne dedicada al autoabastecimiento familiar de un sector poblacional estimado en un millón de habitantes.

A partir de 1995, la producción porcina en Cuba se ha comenzado a realizar en dos sistemas principales: el primero, basado en la producción en un solo sitio con el clásico ritmo de producción en cadena con ciclo productivo completo, en el cual el proceso productivo comienza con la inseminación artificial o monta natural de las cerdas, y concluye con la entrega de cerdos cebados a matadero, y el segundo, que consiste en la producción porcina en dos fases: en la cual el

proceso comienza de la misma manera que el sistema anterior y concluye cuando los cerdos en crecimiento llegan a los 75 días de edad con un peso entre 18 y 20kg. En este momento, salen de las unidades del Grupo de Producción Porcina (GRUPOR), mediante convenios con otros productores de diferentes sectores, fundamentalmente el campesino.

2.4. Probióticos como alternativa viable para disminuir el uso de antibióticos.

Durante varias décadas, los antibióticos se utilizaron como aditivos promotores del crecimiento animal, así como, para eliminar los microorganismos indeseables que afectan su salud. Sin embargo, su uso indiscriminado provoca efectos residuales en los alimentos y el desarrollo de cepas patógenas resistentes (Choct 2001 y Blake *et al.*, 2003).

Se adiciona a esto que la utilización de antibióticos daña el equilibrio ecológico de la flora gastrointestinal, por lo tanto, los animales son sensibles a contraer enfermedades. Por otra parte, la industria farmacéutica no es capaz de desarrollar antibióticos, suficientemente efectivos que compitan con el desarrollo de la resistencia microbiana (Ferket *et al.*, 2002).

Debido a las limitaciones que tiene el uso de los antibióticos, ha sido necesario buscar productos más seguros e inocuos. Se comprobó que el empleo de los probióticos estabiliza el ecosistema gastrointestinal, lo que determina el buen funcionamiento del tracto y, por tanto, el buen estado de salud de los animales (Collins y Gibson 1999, Castellanos y Murguía 1999).

A diferencia del término probiótico (para la vida), antibiótico significa contra la vida, y su acción en los microorganismos es inmediata. Sin embargo, el efecto de los probióticos no es inmediato, pero sí por un período más prolongado (Ouweland *et al.*, 1999).

Otro aspecto importante que diferencia a los probióticos de los antibióticos es que los primeros son inmunoestimulantes y los segundos, inmunodepresores. Es decir, que los principales mecanismos de acción de los probióticos se establecen con la creación de diferentes barreras defensivas (Marca 1999).

Actualmente, en la Unión Europea se prohíbe la utilización de antibióticos como promotores del crecimiento, solamente cuatro de estos productos serán mantenidos hasta el 2006. Sin embargo, otros países como Estados Unidos manifiestan que no existen suficientes elementos que demuestren la resistencia microbiana, a pesar de que en los últimos años se prohibió el uso de antibióticos del tipo quinolonas (Gutiérrez *et al.*, 2002). Por lo tanto, el uso de los probióticos es una alternativa prometedora para el mundo, que cada día tiene una mayor cultura ecológica.

Las terapias con antibióticos, en especial las administradas por vía oral, si bien controlan los microorganismos patógenos también afectan a muchos microorganismos benéficos produciendo trastornos en el equilibrio del microbiota gastrointestinal (Salminen *et al.*, 1998) y modificaciones en el tejido del intestino delgado (Parker, 1990). Muchos de estos antibióticos o sus residuos pueden quedar en los tejidos animales destinados al consumo humano.

2.5. Generalidades de los probióticos.

Los alimentos funcionales son aquellos que afectan positivamente a una o más funciones del organismo, para mantener un estado confortable y saludable o la reducción del riesgo de enfermedades. Existen evidencias basadas en la literatura científica que ubican a los probióticos con efectos funcionales (Vambelle *et al.* 1990). Los probióticos se consideran aditivos alimentarios formados por microorganismos vivos que tienen efectos beneficiosos en la salud del hospedador (Scherezenmeir y de Vrese, 2001).

Deben reunir las siguientes características.

- ✓ No ser sensibles a las enzimas gastrointestinales.
- ✓ Ser estables frente a ácidos y bilis y no conjugarse con las sales biliares.

- ✓ Poseer capacidad para adherirse a las superficies epiteliales.
- ✓ Sobrevivir en el ecosistema intestinal.
- ✓ Producir sustancias antimicrobianas y tener capacidad de crecimiento rápido en las condiciones del intestino grueso.
- ✓ Capacidad de sobrevivir en el tracto digestivo a pesar de los cambios de pH (ácido en estómago y alcalino en ciertas partes del intestino) y de la presencia de sales biliares.
- ✓ Carencia de propiedades patógenas.

2.5.1. Modo de acción de los probióticos.

Aunque durante el siglo pasado se han desarrollado numerosos trabajos para esclarecer los efectos de los probióticos, tanto a partir de bacterias ácido lácticas como de levaduras (Savage 1980 y Taranto *et al.*, 2000), aún queda por definir con mayor exactitud los mecanismos de acción de estos productos. No obstante, podemos ver algunas acciones como:

Mecanismos de Acción de los Probióticos:

1. Algunos ácidos excretados por los microorganismos de los probióticos bajan el pH intestinal por debajo del nivel que toleran los patógenos.
2. Efecto competitivo que puede ser mediado por la ocupación de los lugares de colonización y mejoría de los mecanismos barredores nutricionales.
3. Capacidad de secreción por parte de los lactobacilos y bacterias bífidas de bacteriocinas que tienen amplio espectro de actividad como lactocinas, *helveticinas*, *lactacinas*, *curvacinas*, *nicinas* y *bifidocinas* (Pinos 2007).

Según (Borin 2006), la forma de acción es:

1. Disociación del ácido liberando H⁺ para el medio.
2. Modulación de la microflora intestinal.
3. Incremento del número de microorganismos benéficos:
Bifidobacterium, *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Bacillus*.
4. Reducción del número de microorganismos indeseables.
Salmonella sp, *E. coli*, *Clostridium*, *Staphylococcus*.

La microflora intestinal está involucrada en una amplia gama de sucesos fisiológicos, nutricionales e inmunológicos, que pueden afectar directa o indirectamente la salud y la productividad de las parvadas comerciales. La población normal de microbios en el intestino protege al animal huésped de los microorganismos patógenos. En otro estudio, se observó que el *Lactobacillus sp.* aislado del intestino del cerdo presentaba efectos inhibitorios sobre el crecimiento de las bacterias patógenas, como la *Salmonella* y *E. coli* (Yegani, 2010).

2.5.2. Acción de los probióticos a nivel de tracto gastrointestinal (TGI)

La introducción de un probiótico es un evento natural que beneficia las interacciones naturales y complejas del microbiota intestinal. Sus efectos positivos no sólo serán a nivel del TGI, sino que se reflejarán también en resultados zootécnicos, como son la ganancia de peso vivo y la conversión alimentaria (Prats 1999).

Los probióticos están encaminados, fundamentalmente, a favorecer la microbiota intestinal, que es esencial para descomponer sustancias alimenticias no digeridas previamente y para mantener la integridad de la mucosa intestinal. También son importantes en la producción de vitaminas (sobre todo las del complejo hidrosoluble) y de ácidos grasos de cadena corta. Intervienen, además, en la reducción del nivel de colesterol y triglicéridos en sangre. Al mantener la estabilidad intestinal, logran aumentar la respuesta inmune (Prattset *al.* 2002 y Smolanderet *al.* 2004).

El efecto benéfico de los *Bacillus* como probióticos se produce cuando se ingieren en cantidades adecuadas (1×10^9 UFC/kg de concentrado), modificando el ecosistema del intestino y generando un equilibrio que se manifiesta en un buen estado de salud. La competencia por los nutrientes y por los sitios de adherencia entre probióticos y patógenos que se ingieren por accidente, impide la colonización de agentes patógenos y refuerzan los mecanismos de defensa. Los probióticos se incorporan como aditivos, por lo que generan un estado positivo y

promueven efectos fisiológicos en el organismo, más allá de su valor nutritivo tradicional (Prattset *al.* 2002 y Smolanderet *al.* 2004).

Los probióticos en la flora digestiva de los cerdos actúan de diferentes formas:

- Produciendo ácido láctico, los lactobacilos son bacterias que pueden transformar la lactosa en ácido láctico, consiguiéndose así tal acidez en el tubo digestivo que se le hace la vida imposible a ciertas bacterias dañinas.
- Elaborando vitaminas, beneficiosas y necesarias para los cerdos.
- Produciendo sustancias (ejemplo: acidolinas) que atacan a las bacterias perjudiciales.
- Fabricando enzimas que ayudan a la digestión.
- Por la simple presencia física: evitan que su lugar sea ocupado por microorganismos no deseados, (Moreno, E. 2010).

2.5.2.1. Modo de acción de las levaduras en especies monogástricas.

Las levaduras son microorganismos eucariotas y sus propiedades son completamente diferentes a las de las bacterias. Por ejemplo, las levaduras son resistentes a los antibióticos, sulfamidas y otros agentes antibacteriales. Esta resistencia es genéticamente natural y no es susceptible a ser modificada o transmitida a otros microorganismos. El tamaño de las levaduras varía alrededor de $5 \times 10 \mu\text{m}$ y es también significativamente mayor al de la bacteria ($0.5 \times 5 \mu\text{m}$) (Auclair, 2001; Lázaro et al., 2005).

Los mecanismos de acción de los beneficios de la suplementación de levaduras en especies no rumiantes son la estimulación del borde de cepillo disacárido, los efectos antiadhesivos contra patógenos, la estimulación de una inmunidad no específica, la inhibición de la actividad de las toxinas y el efecto antagonista contra microorganismos patógenos (Auclair,2001; Lázaro et al., 2005). Se presenta su descripción a continuación.

a. Estimulación de las disacaridasas del borde en cepillo.

Buts et al., (1986) demostraron que la ingestión oral de *S. cerevisiae* por humanos voluntarios y ratas destetadas resultó en un marcado incremento específico y total de la actividad disacaridasa de la membrana del borde en cepillo, incluyendo sacarasa, lactasa y maltasa. Este efecto puede resultar interesante si se tiene en cuenta que algunas diarreas están asociadas con una disminución de la actividad disacaridasa. Buts et al (1994) concluyen que el incremento de la actividad de la disacaridasa podría ser mediada por un reconocimiento endoluminal de poliaminas (spermina y spermidina) producido por levaduras vivas.

b. Propiedades antiadhesivas.

La adhesión de los patógenos de la pared celular de las levaduras induce un efecto protector, ya que el complejo levadura/patógeno es luego rápidamente eliminado por el tracto digestivo. La competencia entre levaduras y patógenos por adherirse a células intestinales puede ayudar a explicar el efecto benéfico de las levaduras debido a que la adhesión es crucial para la expresión de efectos protectivos (Gedek, 1987).

c. Estimulación de la inmunidad.

El mecanismo de respuesta ante estímulos inflamatorios ha sido caracterizado e involucra un glucanoreceptor específico el cual es presentado por leucocitos de sangre periférica y macrófagos extravasculares. La activación de este glucano receptor estimula la amplificación de las defensas del hospedero, las cuales involucran una cascada de interacción primaria derivada por macrófagos como citocinas (Cuaron, 1999). Según Song y Di Luzio (1979), citado por Cuaron (1999), los glucanos pueden ser considerados como inmunoamplificadores.

d. Inhibición de la acción de toxinas.

Se ha mostrado un efecto protector de *Saccharomyces cerevisiae* contra *Salmonella typhimurium* y *Shigella flexneri* en ratones. El efecto protector puede no estar relacionado a la reducción de la población bacteriana de gérmenes patógenos en el intestino, sino más bien a la reducción de la cantidad disponible

de toxinas secretadas por patógenos. Generalmente las toxinas se unen a receptores específicos en las células del epitelio intestinal e inducen cambios, resultando en una pérdida de agua y electrolitos (Auclair, 2001; Lázaro et al,2005).

2.6. Generalidades sobre la fisiología digestiva del cerdo.

El estudio de la fisiología de los órganos del tracto gastrointestinal de los animales tiene una gran importancia ya que este interviene en la degradación de los alimentos consumidos. Así mismo la utilización que de ello pudiera realizar el organismo depende de la eficiencia de los procesos digestivos (Álvarez, 1984).

En los animales superiores el sistema digestivo presenta un esquema estructural semejante (boca, faringe, esófago, estómago e intestinos). Sin embargo, los hábitos alimentarios han modificado algunas de estas estructuras adaptándolas al tipo de alimento preferido y como respuestas a las condiciones impuestas por la naturaleza Álvarez, (1984).

El aparato digestivo del cerdo concuerda perfectamente con el de un animal omnívoro con una dentición completa. Esto permite una verdadera masticación de los alimentos que entran al estómago completamente triturado por lo que el tracto gastrointestinal (TGI) es normal.

Tabla 1. Principales enzimas presentes en el TGI de los animales domésticos.

Boca	Amilasa salival cerdos		
Estómago	Pepsina, CLH y jugo gástrico	Renina o fermento lab	Lipasa gástrica (lactantes)
Intestino delgado	Tripsina, Quimotripsina Carboxipeptidasa Lipasa y Amilasa	Carboxiamino Endopeptidasa Sacarasa,maltasa, lactasa y enterosinasa	lecitinasas, Fosfatasas, prolinasas, nucleosidasas

Fuente: Álvarez, (1984).

La **saliva** de los mamíferos contiene enzimas digestivas, la más importante es la amilasa salival que realiza la hidrólisis parcial de los almidones.

El **estómago** del cerdo se presenta como un reservorio de alimentos, los retiene mientras estos sufren cambios mecánicos y químicos, además de controlar la salida de alimentos digeridos hacia el intestino (duodeno). El contacto de los alimentos con la mucosa gástrica sirve como estímulo directo de las funciones iniciadas por el nervio vago y la hormona gastrina especialmente para la producción del jugo gástrico (Kolb, 1975).

Del **intestino delgado**, los primeros 60cm constituyen el duodeno el cual se continúa con el yeyuno y el ileon sin que exista una línea de demarcación entre estos dos. En toda la superficie del intestino la mucosa posee pliegues y presenta un aspecto aterciopelado debido a las prolongaciones digestiformes llamadas vellosidades (Sisson, 1977).

Entre las vellosidades se hallan numerosas glándulas intestinales llamadas Lieberkuhn que conjuntamente con las glándulas de Brunner segregan el jugo entérico.

La motilidad del intestino delgado es variable y existen contracciones peristálticas, cambios tónicos y movimientos pendulares de las vellosidades. En el cerdo son más características los movimientos pendulares que mezclan los alimentos con los jugos digestivos y los pone en contacto con la mucosa para su absorción y contribuye al movimiento del contenido intestinal a través del tracto

El **intestino grueso** del cerdo es más grueso y más ancho que el delgado, está constituido por el ciego, colon y el recto terminando en el esfínter anal. Las secreciones de las glándulas mucosas no producen enzimas y las que se hallan a este nivel provienen del intestino delgado.

La función del intestino grueso es continuar la digestión del material que escapa a la absorción en el intestino delgado. La presencia de bacterias en aquellos tramos

del TGI donde el vaciado es incompleto (íleon, ciego y colon) brinda condiciones idóneas para el desarrollo y multiplicación de estas y favorecen su acción química en el contenido intestinal completándose así la digestión en este nivel. Otra función fundamental es devolver a la sangre el agua vertida por medio de las secreciones de las glándulas digestivas, así como los electrolitos, vitaminas y aminoácidos (Kolb, 1975).

El páncreas a diferencia del hígado produce una cantidad importante de enzimas digestivas que permiten la degradación de las proteínas (tripsina y quimotripsina), del almidón (amilasa) y de las grasas (lipasas).

2.7. Microbiología del tracto intestinal de los cerdos.

En los últimos 10 años se ha visto un creciente interés en las interacciones entre la alimentación, salud intestinal y microbiología en los monogástricos, en particular en los países europeos con una reducción al acceso de los antibióticos profilácticos. Es reconocida en los cerdos la contribución energética de las bacterias del intestino grueso mediante la formación de ácidos grasos volátiles (de especial interés el butirato por su papel en el crecimiento y funcionalidad de los villis), así como la producción de ciertas vitaminas y minerales como metabolitos secundarios de las fermentaciones (Simon, 2004).

Sin embargo, es de crucial importancia para la salud y crecimiento del animal el mantenimiento de un correcto balance de los microorganismos, permitiendo la fermentación de las fracciones no digeridas del pienso sin potenciar el crecimiento de las especies patógenas. Recientemente al examinar las comunidades bacterianas del íleon y colon mediante los modernos métodos de secuenciación del 16S rDNA, encontró que el 83% de las especies eran desconocidas (Simon, 2004), pudiéndose sospechar que aún no se han identificado la mayoría de las bacterias del intestino grueso, siendo mucho menos lo conocido sobre la composición bacteriana del intestino delgado.

Se plantea que son muchas las bacterias y las levaduras que pueden usarse de forma beneficiosa para mantener una microbiota digestiva sana y en equilibrio.

Para esto, los microorganismos más usados son *Lactobacillus* spp, *Streptococcus faecium*, *Bacillus subtilis*, *B. cereus*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus stearothermophilus* y *Saccharomyces cerevisiae*.

Los *Lactobacillus* que crecen rápidamente en el intestino son quizás los más conocidos por los avicultores, se trata de bacterias que pueden transformar la lactosa en ácido láctico. Este aumento de ácido láctico hace disminuir el pH intestinal a niveles tan bajos, que la supervivencia de microorganismos como la *Escherichia coli*, *Salmonellas*, entre otros, se hace muy difícil. Las levaduras también forman parte de los probióticos. Se utilizan por su poder fermentativo y por lo ricas que son en vitaminas del grupo B, sus enzimas hidrolíticas intervienen satisfactoriamente en el proceso de digestión.

Casula y Cutting, (2002) plantearon que cultivos del género *Bacillus* pueden utilizarse en la elaboración de productos probióticos que se suministran en el alimento para prevenir desórdenes digestivos y mejorar el desarrollo zootécnico.

Gunther (1995), refiere que el estrés que se presenta en los animales a temprana edad en los sistemas de crianza es debido a la contaminación ambiental de bacterias patógenas y no patógenas que colonizan el intestino. De esta forma se crea una exclusión competitiva que determina el establecimiento de microorganismos y estos, una vez instalados, generan un ambiente mediante la producción de metabolitos que resultan tóxicos para el organismo competente.

Fuller (1992), describe el mecanismo de acción de los probióticos planteando que puede llevarse a cabo de las siguientes maneras:

a) Competencia por la adhesión en los receptores del epitelio intestinal y competencia por nutrientes.

Es un mecanismo el cual se refiere a la capacidad de las bacterias probióticas de competir con bacterias patógenas por un lugar en la pared intestinal y por

nutrientes. La flora bacteriana normal del tracto intestinal actúa como una barrera defensiva al impedir que el espacio del epitelio celular quede disponible para los patógenos, o al crear un ambiente desfavorable para los mismos Fuller (1992).

Dicho de otra forma, si los habitantes del tracto intestinal están seguros en su nicho, el potencial patógeno no podrá competir exitosamente para fijarse en el epitelio, además cualquier cosa que afecte el equilibrio de la flora intestinal normal podrá dar acceso a los patógenos que se multiplicarán más fácilmente para fijarse en el epitelio Requena y Peláez (1995). La administración de cultivos probióticos derivados de cerdos destetados saludables, hacia cerdos neonatales resulta en la reducción de la colonización intestinal y expulsión fecal de patógenos como *E. coli* y *Salmonella cholerausis* (Casula y Cutting, 2002).

b) Producción de sustancias antibacterianas.

Este mecanismo consiste en que una vez establecidas, algunas bacterias probióticas, estos son capaces de producir diferentes sustancias como ácido láctico, el cual acidifica el medio intestinal, creando un ambiente hostil para el desarrollo de bacterias nocivas, quienes ven reducidas significativamente su velocidad de multiplicación y comienzan a morir al no encontrar un ambiente adecuado y sustratos para su desarrollo (Fuller, 1992).

Por otro lado, se debe considerar que en los medios intestinales ácidos se estimula y se ve favorecida la absorción de nutrientes. Para comprender este principio debemos recordar que las bacterias enteropatógenas se multiplican y viven en pH 5.5 a 7.5, siendo su medio óptimo lugares donde existan pocas bacterias productoras de ácido láctico. Otra sustancia producida es el acidolin, secretado también por estas bacterias ácido lácticas (Figueredo y Pedroso 1993).

c) Estimulación de la inmunidad.

Estudios recientes han atribuido a los probióticos el mecanismo de acción de inmuno estimulación. La flora microbiana de un animal tiene un efecto significativo sobre el sistema inmunológico del organismo. El número de linfocitos

intraperitoneales, células plasmáticas y placas de Peyer es muy baja en animales libres de patógenos que en animales en regímenes de producción (Goldin, 1998).

Los resultados obtenidos han demostrado que algunos *Lactobacilos* usados como probióticos son capaces de estimular el sistema inmune mediante dos vías: La primera, migración y multiplicación de los microorganismos probióticos a través de la pared intestinal estimulando las partes más lejanas, y la segunda, por reconocimiento de organismos probióticos muertos como antígenos que puedan estimular directamente el sistema inmune (Segura y De Bloss, 2000).

Es importante notar que de la mayoría de las especies bacterianas usadas como probióticos, los *Bacillus* y *Lactobacillus* difieren en muchas características; así, *Lactobacillus* son especies bacterianas presentes de manera normal en la microflora digestiva de los animales, mientras que los *Bacillus* y las levaduras no son componentes normales de la microflora intestinal (Cummings *et al.* 2001).

Un sistema digestivo saludable es crucial para una producción óptima. Para permitir un paso eficiente de los nutrientes a la sangre, el intestino tan solo está protegido por una capa de células epiteliales. Sin embargo, existen muchos más mecanismos de defensa para minimizar el riesgo de enfermedades intestinales y entrada de patógenos. La microflora del tracto gastrointestinal (TGI) juega un papel crucial en la defensa del intestino; las bacterias beneficiosas limitan el crecimiento de patógenos, intentando excluirlas del sistema (Rolfe, 1991). Es esencial disponer de un profundo conocimiento del desarrollo y composición de la microflora GI y sus fuerzas de regulación para entender la dinámica de la microflora intestinal.

Pueden aplicarse dos tipos de aproximaciones nutricionales básicas para promover una microflora GI beneficiosa. Primera, mediante el suministro de las bacterias beneficiosas (probióticos) podemos promover y complementar la microflora endógena. El efecto de los probióticos está bien documentado en la literatura.

Bacterias Gram+ como *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Pediococcus*, *Bacillus*, y *Bifidobacteria*, y levaduras del género *Saccharomyces* son a menudo suministradas después de una terapia antibiótica con el fin de reintroducir una flora beneficiosa en el intestino de los animales afectados (Spring, 2004). Una segunda posibilidad para influir positivamente sobre la exclusión competitiva proviene de apoyar ciertos mecanismos específicos, los cuales pueden conseguirse mediante la modificación de la composición de la dieta o el uso de aditivos. Por ejemplo, según Geliot (comunicación personal) la suplementación de la dieta con MOS reduce la colonización por *Clostridium perfringens* en lechones.

Uno de los parámetros claves que influyen la microflora intestinal son las condiciones del medio, particularmente la concentración intestinal de ácidos y el pH. Las bacterias beneficiosas inhiben la colonización por patógenos mediante la producción de ácidos grasos volátiles y ácido láctico que reduce el pH de micromedio del borde epitelial. Los ácidos orgánicos tienen un fuerte efecto antimicrobiano, especialmente sobre los patógenos Gram-. Mathew et al. (1996) demostraron que, durante la fase de destete de los lechones, este mecanismo se debilita, y como consecuencia son particularmente susceptibles a los trastornos digestivos y la diarrea.

Al mejorar la digestibilidad de la dieta queda poco sustrato para la fermentación bacteriana y por tanto refuerza la competición de las bacterias por los nutrientes.

Es esencial asegurar al máximo todos los factores relacionados con la digestión de los nutrientes mediante el uso de ingredientes de alta calidad o pronutrientes como los enzimas, probióticos. En un mundo donde la confianza en los antibióticos subterapéuticos está disminuyendo, el desarrollo y mantenimiento de una correcta población bacteriana intestinal es esencial para la salud y el crecimiento de los cerdos hasta su potencial genético Mathew et al. (1996).

El tracto intestinal se coloniza rápidamente después del nacimiento con el contacto con la madre, ya sea con sus deyecciones o con sus secreciones, de tal manera

que el lechón, después de tres días de nacido presenta ya una microflora intestinal que le ayuda a efectuar procesos digestivos, y se convierte en una barrera de defensa muy importante; esto evita que las bacterias patógenas puedan colonizar el tracto intestinal, pues en esta etapa el animal depende, en teoría, exclusivamente de la alimentación de la leche materna Mathew et al. (1996).

2.7.1. Microorganismo.

Escherichia coli es un bacilo Gram negativo que forma parte de la biota intestinal de los animales y del hombre, coexistiendo en su hábitat cepas patógenas y no patógenas. Por su gran capacidad para intercambiar genes entre sí y con otras bacterias intestinales, se ha detectado una diversidad de patotipos causantes de enfermedades intestinales y extraintestinales, aunque las cepas patogénicas son específicas de huésped y poseen atributos de virulencia característicos. En algunos casos *E. coli* tiene un papel primario como agente etiológico de la enfermedad, pero en otros actúa como oportunista.

La adhesión microbiana a los tejidos del huésped es un evento crítico en la patogénesis de la mayoría de las infecciones. Las bacterias no adherentes rápido se eliminan por mecanismos inespecíficos de defensa del huésped, tales como el peristaltismo, el movimiento ciliar y el flujo de líquidos, o por el recambio de células del epitelio y de la capa mucosa. Los componentes microbianos que median la adherencia a los tejidos del huésped y que son considerados como factores de virulencia, son diversos. Para que se lleve a cabo la colonización, la adherencia microbiana es necesaria no sólo al inicio de la infección, sino también durante su trayecto para unirse a moléculas blanco como parte de sus estrategias de patogenicidad.

Un ejemplo es que muchos microorganismos invasivos entran en la célula del huésped después de unirse a estructuras de superficie, y en algunas ocasiones la unión bacteriana puede conducir a alteraciones estructurales y/o funcionales de las proteínas del huésped, así como a la activación de mecanismos celulares que

influyen en la invasión del patógeno a células y tejidos, hecho que se refleja en el tipo de enfermedad que se produce. La superficie de las células del huésped contiene muchas proteínas, glicoproteínas, glicolípidos, y otros carbohidratos que pudieran servir como receptores para la adherencia bacteriana. Asimismo, la matriz extracelular proporciona una fuente rica de glicoproteínas para que la bacteria se una e implante.

Muchos microorganismos como *Bacillus cereus*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus subtilis*, *Enterococcus faecium*, *Lactobacillus faciminis* y *Saccharomyces cerevisiae* han sido autorizados como nuevos aditivos en la alimentación. Todas estas cepas han demostrado efectos positivos en diferentes hospederos, sobre todo en el incremento de los parámetros productivos y en una mejor condición sanitaria y salud intestinal (Breul,1998). Si bien muchas cepas de bacterias como *Lactobacillus* spp., *Bacillus subtilis* y *Bifidobacteria* han sido usadas comercialmente para producir probióticos, también pueden usarse levaduras como *Saccharomyces cerevisiae* para manipular las condiciones dentro del intestino (Pollmann, 1992; Fox, 1994; Close,2000; Lázaro et al., 2005).

Es importante notar que de la mayoría de las especies bacterianas usadas como probióticos, los *Bacillus* y *Lactobacillus* difieren en muchas características; así, *Lactobacillus* son especies bacterianas presentes de manera normal en la microflora digestiva de los animales, mientras que los *Bacillus* y las levaduras no son componentes normales de la microflora intestinal (Guillot, 1998).

2.8. Importancia del cultivo de la calabaza (*Cucúrbita pepo*)

Este cultivo ha cobrado importancia por la creciente demanda de la población por esta hortaliza, debido a su alto contenido en fibra, calcio y fósforo. La calabaza se consume principalmente fresca, su recolección tierna, sin alcanzar su tamaño definitivo, se consume frita en aceite; aunque también se utiliza en cremas, confituras. El color del fruto es variable, desde el amarillo al verde oscuro, pasando por el verde claro, que es el tipo de calabaza más consumido en el mundo. Además, la cosecha requiere de mucha mano de obra. Mínimo 15

personas por hectárea por día. La cosecha de ese cultivo es de 45-50 días por lo menos. Si se cuida y se ponen las barreras rompe vientos la duración es hasta de 75 a 90 días en cosecha. (PROMOSTA. 2005).

2.8.1. Generalidades del cultivo de la calabaza

La calabaza es considerada originaria de México y de América Central, de donde fue distribuida a América del Norte y del Sur. Cuyas especies más conocidas son: (Cucúrbita pepo, Cucúrbita máxima, Cucúrbita moshata y Cucúrbita mixta): distinguiéndose por algunas características especiales que la diferencian como son: hábito de crecimiento, forma, tamaño de sus frutos y semillas. Su cultivo ha cobrado importancia por la creciente demanda de la población por esta hortaliza, debido a su alto contenido de fibra, calcio y fósforo. (PROMOSTA, 2005.)

2.8.2. Morfología.

La planta es monoica, anual, rastrera, de hojas grandes, simples, alternas, lobuladas, de color verde oscuro intenso, con manchas blanquizcas, distribuidas en el haz de la hoja; presenta ramificación de tallo y cuenta con un sistema radicular profundo hasta 1.83 metros o más; toda la planta está cubierta de vellosidades, lo cual le da un aspecto aterciopelado sin llegar a adquirir consistencia de espinas; la guía puede alcanzar una longitud de hasta 10 metros; las flores femeninas difieren de las masculinas por la presencia de ovarios y la presencia de anteras; el ovario puede ser de forma cilíndrica o esférica.

Las flores masculinas tienen pedúnculos largos apareciendo estas primero que las femeninas. Las plantas presentan un zarcillo en cada nudo, las cuales pueden ser simples o ramificadas, el fruto es un pepo de distintos tamaños, formas y colores, la cáscara es muy dura y de colores pajizos que van desde el amarillo al anaranjado oscuro, el pedúnculo es de forma pentagonal delgado y anguloso, presentando un ligero ensanchamiento en la unión con el fruto.

2.8.3. Origen y variedades

Aunque algunas fuentes afirman que su origen está en América, parece ser que la calabaza es una hortaliza originaria de Asia Meridional. Numerosos autores antiguos citan a la calabaza en sus escritos y se sabe que su cultivo ya se producía entre los hebreos y egipcios.

En un principio, la calabaza se cultivaba para el aprovechamiento de sus semillas más que para ser consumida como hortaliza. Pero esta costumbre fue desapareciendo a medida que surgieron variedades con más pulpa y sabor más afrutado.

Su consumo se extendió desde Asia hasta América Central y, a partir de allí, llegó tanto al sur como al norte de este continente. Sin embargo, no fue hasta el siglo XV cuando los españoles introdujeron la calabaza en Europa, donde se propagó en mayor medida por los países de clima más cálido. Las principales variedades de calabaza son la de verano y la de invierno.

Calabaza de verano: variedad de piel clara y fina y semillas blandas. Tiene un periodo corto de conservación. Dentro de esta variedad se encuentra la calabaza bonetera (de color blanco, verde o amarillo), la calabaza espagueti (de color amarillo) y la calabaza rondín (variedad de piel naranja y carne blanquecina).

Calabaza de invierno: variedad más dulce, pero más seca que la de verano, con menor contenido de agua y piel más gruesa. Se conserva durante más tiempo que la de verano gracias al grosor de su piel. Dentro de este grupo se encuentra la calabaza banana, la de cidra o zapallo (de pulpa gelatinosa e intenso color amarillo) y la confitera o de cabello de ángel (de forma y color variable), a partir de la cual se obtiene el cabello de ángel, utilizado como relleno en diversos productos de pastelería.

Existen también otras variedades de calabaza, aunque menos conocidas, como son la americana, la Amarilla gruesa de París, la Llena de Nápoles, la Roja de Estampes, la Verde Española, la botonera y la calabacita de Brasil.

2.8.4. Propiedades nutritivas

El componente principal de la calabaza es el agua, lo que, unido a su bajo contenido en hidratos de carbono y a su casi inapreciable cantidad de grasa, hace que sea un alimento con un escaso aporte calórico.

Es buena fuente de fibra que ofrece valor de saciedad y mejora el tránsito intestinal por la alta presencia de mucílagos. Éstos son un tipo de fibra soluble que tiene la capacidad de suavizar las mucosas del tracto gastrointestinal (TGI).

En relación con las vitaminas, la calabaza es rica en beta-caroteno o provitamina A y vitamina C. Presenta cantidades apreciables de vitamina E, fosfatos y otras vitaminas del grupo B tales como la B1, B2, B3 y B6.

La vitamina E, al igual que la C, tiene acción antioxidante, y ésta última además interviene en la formación de colágeno, glóbulos rojos, huesos y dientes. También favorece la absorción del hierro de los alimentos y aumenta la resistencia frente las infecciones.

También contiene otros minerales como fósforo y magnesio, pero en menores cantidades. El fósforo, al igual que el magnesio, juega un papel importante en la formación de huesos y dientes, pero este último además se relaciona con el funcionamiento del intestino, nervios y músculos, mejora la inmunidad y posee un suave efecto laxante.

Composición por 100 gramos de porción comestible

Energía (Kcal)	27.3	Magnesio (mg)	13
Agua (ml)	91	Calcio(mcg)	27

Hidratos carbono (g)	5.4	Vitamina A (mcg de Eq. de retinol)	75
Fibra (g)	1.5	Fosfatos (mcg)	25
Potasio (mg)	233	Vitamina C (mg)	14

mcg = microgramos (millonésima parte de un gramo)

2.9. Fermentación

La fermentación es un proceso metabólico de oxidación y puede ser aeróbico cuando tiene lugar en presencia de oxígeno y anaeróbico si se producen fuera del contacto con el oxígeno. Durante la fermentación, los microorganismos oxidan los hidratos de carbono de la materia orgánica, lo que le proporciona esqueletos carbonados y energía en forma de ATP para su crecimiento y liberan principalmente dióxido de carbono (CO₂), amonio (NH₄), nitrógeno (N₂) y agua (H₂O) cuando es aeróbico y metano (CH₄), dióxido de carbono (CO₂), amoniaco (NH₃), ácido sulfhídrico (SH₂) y nitrógeno (N₂) e hidrógeno (H₂) cuando es anaeróbico (Ramírez, 2003).

Los procesos fermentativos se pueden dividir en fermentación líquida sumergida (FLS) y fermentación en estado sólido (FES). La mayor diferencia entre estos dos procesos biológicos, es la cantidad de líquido libre en el sustrato. En las FLS existe agua libre en el sistema y las FES se caracterizan por desarrollarse en sustratos sólidos húmedos, donde no existe agua libre en el sistema. Mitchell *et al.* (2002).

2.9.1. Fermentación en estado sólido (FES)

En los últimos años, la fermentación en estado sólido mostró ser muy prometedora en el desarrollo de algunos bioprocesos y productos y se evaluó el potencial de varios productos que se obtienen por este método. Este proceso fermentativo consiste en hacer crecer un microorganismo sobre un sustrato, con el uso de una fuente de nitrógeno y sales nutritivas, bajo ciertas condiciones de humedad, pH, aireación y temperatura. No presenta agua libre en su estructura, aunque necesita de determinados requerimientos de humedad.

El desarrollo de la biotecnología permite el empleo de algunos microorganismos, como es el caso de los hongos filamentosos con vistas al enriquecimiento proteico del producto final y la excreción al medio de enzimas entre las que se encuentran las celulasas, amilasas, pectinasas, xilanasas y glucoamilasas (Ramos et al. 2007 y Díaz-Plascencia *et al.*, 2010).

La tecnología de la FES se basa en la utilización, de fuentes de carbono y nitrógeno inorgánico, para obtener proteína mediante el desarrollo de microorganismos (Álvarez *et al.* 2011). Una de las ventajas de la FES, es que el proceso requiere de equipos de bajo costo y abundantes residuos agroindustriales como sustrato y algunos requieren pretratamientos (Mitchell *et al.* 2002). La selección del sustrato depende de varios aspectos, principalmente el costo y su disponibilidad (Pandey *et al.* 2001).

Elías *et al.* (2008), señalaron que los sustratos empleados en los procesos de FES, deben presentar las siguientes características:

- Contenido satisfactorio de fuentes de carbono disponibles para el uso microbiano.
- Estructuras físicas fuertes para la fermentación en capas profundas y que permitan el flujo de aire.
- Poseer una estructura desmenuzada que permitan el intercambio gaseoso.
- Capacidad máxima de almacenamiento del agua que permitan la solubilización de nutrientes.
- Contenido moderado de sustancias indigestibles.
- Una composición favorable para el desarrollo microbiano.

2.9.2. Factores que intervienen en el proceso de la FES

Según Krishna (2005), existen factores físicos, químicos y ambientales, que pueden afectar el proceso de FES (actividad del agua, temperatura, pH, tipo de sustrato, tamaño de partícula, aireación, entre otros). Uno de los criterios de mayor

importancia para el éxito en los procesos de FES, es la selección de la cepa microbiana y el sustrato conveniente (Pandey *et al.* 2001 y Krishna, 2005).

Fuente de carbón y la relación carbón/nitrógeno: la fuente de carbón representa la fuente de energía que puede estar disponible para el crecimiento de los microorganismos y puede ser un monosacárido simple o un polisacárido complejo. La selección de la fuente de carbón está en función de los microorganismos a emplear y el producto a obtener. El nitrógeno es un factor que determina el crecimiento de los microorganismos y desempeña un importante papel en el cambio de pH en el sustrato durante la fermentación.

Temperatura: probablemente es el más importante de todas las variables físicas, que afectan la FES, porque el crecimiento y la producción de enzimas o metabólicos que son sensible a la temperatura (Krishna, 2005). La temperatura se eleva debido a las características exotérmicas de los procesos de fermentación y es uno de los indicadores más difícil de controlar durante el proceso de FES. Muchos de los microorganismos usados en la FES son mesófilos y su temperatura óptima de crecimiento está entre 20 y 40 °C y un máximo inferior a 50 °C.

Actividad del agua: se considera como un indicador fundamental para la transferencia de masa, de agua y los solutos, a través de la membrana celular (Anupama y Ravindra, 2001). Altos valores de humedad pueden desplazar los gases del espacio entre las partículas y causar aglomeración y dificultar el intercambio gaseoso entre las partículas. Por otro lado, altos valores de humedad pueden hinchar el sustrato, lo que incrementa la porosidad y esto favorece la difusión y acción de las enzimas, y mejora la penetración micelial. En general, se estableció que, en el caso de las bacterias, la humedad de la matriz sólida puede ser mayor de 70%, para las levaduras de 60 a 70% y en el caso de los hongos, de 20 a 70% (Mitchell *et al.*, 2002 y Krishna, 2005).

pH: cada microorganismo posee un rango óptimo para crecer. La liberación de amonio por la desaminación de la urea u otras aminas durante el proceso de fermentación puede incrementar el pH. La magnitud del cambio de pH, dependerá de la actividad metabólica de los microorganismos y de la capacidad amortiguadora del sustrato (Mitchell *et al.*, 2002). El mismo cambia por diferentes razones; normalmente disminuye por la secreción y acumulación de ácidos orgánicos como acéticos y lácticos durante el proceso, producido por la oxidación de las fuentes de carbono. No obstante, la fuente de nitrógeno utilizada influye mucho en la tendencia que sigue el pH (Krishna, 2005 y Díaz, 2014).

Un intento para superar la variación de pH durante los procesos de FES es el de formular sustratos en que se considere la capacidad amortiguadora de los diferentes componentes empleados, o por el uso de tampón formulados con componentes que no tengan influencia letal en la actividad biológica. En general, se observó que el crecimiento de los hongos tiene un rango de pH entre 3,5 y 6, las levaduras entre 4,5 y 7 y las bacterias ligeramente mayores que los hongos. Sin embargo, esto no es una regla, ya que algunos *Lactobacillus* y otras bacterias, pueden crecer a pH 2 (Pandey *et al.*, 2001).

Aireación: resulta un factor básico para el desarrollo del proceso. La aireación se utiliza para suministrar el oxígeno necesario, para extraer el CO₂ que se forma, así como para extraer el calor metabólico que evoluciona, de manera que el flujo óptimo de aire debe tomar en consideración la naturaleza del microorganismo que se utiliza, los requerimientos de oxígeno para el crecimiento y la formación del producto deseado o ambos factores (Krishna, 2005).

Tamaño de partículas: generalmente, un sustrato de pequeño tamaño de partículas puede proporcionar mayor superficie para el ataque microbiano, porque existe mayor superficie de contacto entre el microorganismo y el sustrato, y por consiguiente, mejor aprovechamiento de los nutrientes y mejor transferencia de oxígeno (Krishna, 2005).

De igual forma se optimizan los espacios vacíos interpartículas que faciliten la transferencia de gases y de calor. Sin embargo, un tamaño de partículas muy pequeño, provoca que el sustrato se aglomere e interfiera con la respiración/aeración microbiana, dando por resultado un pobre crecimiento. Un mayor tamaño de partículas proporciona mejor eficiencia de respiración/aeración, por el incremento del espacio entre las partículas, pero limita la superficie de ataque microbiano (Pandey et al. 2001).

III. MATERIALES Y METODOS

Experimento 1. Uso del Biolac en precebas porcinas

Localización del trabajo

El trabajo se realizó en la Finca La Juanica, perteneciente a la CCSF Ángel Bouza ubicado en el km 22 de la carretera Guantánamo-Yateras, en el municipio Manuel Tames de la provincia de Guantánamo. Al Sur colinda con UBPC Antonio Maceo Grajales, al Este limita con el camino real de Honduras, al Oeste con la finca Melba Duarte y por el Norte con el arroyo la Güira.

Diseño Experimental:

Se utilizaron 30 cerdos en preceba del Híbrido Yorkshire x Landrace, de peso promedio de 7 kg, durante 42 días, coincidiendo entre los 33 a los 76 días de edad de los cerdos, según diseño completamente aleatorizado con dos tratamientos y quince repeticiones, cada cría se considero como una repetición y se identificaron con numeración en la oreja derecha. Los tratamientos empleados se describen a continuación:

Tratamientos evaluados

Tratamiento 1: Control sin aplicación del producto Biolac.

Tratamiento 2: Aplicación del producto Biolac.

Elaboración del Biolac y procedimiento para su uso:

Procedimiento

-Se pesan los ingredientes: Miel final de caña (10 %), urea (0.5 %) sulfato de magnesio (0.2 %), premezcla minero-vitamínica (0.5 %), fosfato de calcio (0.2 %), harina de soya (4 %), harina de maíz (4 %), yogurt natural sin saborizantes (1 litro) y agua hasta completar 100 litros.

-Se disuelve la miel en agua.

-A esta solución se le vierte el sulfato de magnesio, la premezcla minero vitamínica, y el fosfato de calcio, todo esto se mezcla bien.

-Se incorpora la soya, el maíz y el yogurt y se mezcla bien.

-Se remueve cada dos horas y después de dos días de fermentación se revuelve solo en la mañana y en la tarde, al tercer día el producto está listo para ser suministrado a los animales.

Esquema de suministro del Biolac.

1. Al llegar la cría se suministra por vía oral (foto 1) 5 ml del producto / kg de peso vivo (esto sería solamente al primer día al llegar el animal).
2. Repetir lo anterior en la segunda semana solo por un día.
3. A partir de la tercera semana y hasta la sexta, se suministra 15 ml por cada kg de peso vivo sobre el pienso (solo un día a la semana).
4. Si durante el tiempo restante de la preceba se muestran animales con diarreas se suministrará por vía oral 5 ml / kg de pesos vivo diario hasta que desaparezca la diarrea.

Foto 1. Suministro oral del Biolac

Indicadores evaluados en los cerdos:

Diarreas/ días: El control de este indicador se realizó durante todo el periodo de investigación, por animal y por día.

Frecuencia de Diarrea/ animal: A cada cerdo con desorden digestivo se le realizó el control de las frecuencias de diarreas por días.

Mortalidad: Número de animales que murieron durante el experimento por tratamiento.

Morbilidad: Número de animales enfermos por tratamiento.

Viabilidad: Cantidad de animales vivos al final del experimento.

Peso de inicio: Se pesaron el 100% de los animales (con una edad promedio de 34 días), en el horario de la mañana en una báscula colgante cubana, exactitud mínima 0,25 kg y un alcance de 60kg.

Peso final: Se pesaron todos los cerdos a los 42 días de haber ingresado a la unidad y concluido el experimento, con una edad promedio de 76 días en una báscula colgante cubana, exactitud mínima 0,25 kg y un alcance de 60kg.

Consumo: = alimento ofrecido - alimento rechazado.

El consumo de alimento se determinó en los mismos horarios de suministro de alimentos, por diferencia entre la cantidad ofrecida y la rechazada.

Conversión: Para determinar la conversión alimenticia, se tuvo en cuenta la relación del consumo de alimento entre el incremento de peso, expresado en kilogramos, según la fórmula utilizada por Corzo *et al.*, (1999).

$$Conv = \frac{TAC}{GTE}$$

Donde:

Conv = conversión de alimentos.

TAC= total de alimento consumido en kg.

GTE= ganancia de peso total en kg de la etapa.

Ganancia Media Diaria: Para determinar la ganancia media diaria (GDM) se empleó la fórmula informada por Corzo *et al.* (1999).

$$GMD = \frac{PF - PI}{Días}$$

Dónde:

PF= peso final en kg.

PI= peso de inicio en kg.

Ganancia de Peso: = Peso final - peso inicial.

Se determinó por diferencia entre el peso final de los animales menos el peso inicial.

Se determinaron además los indicadores económicos siguientes:

- Consumo de pienso, kg
- Consumo de Biolac, Litro
- Costo del pienso consumido, \$ CUP
- Costo del Biolac consumido, \$ CUP
- Costo total de la dieta
- Peso final por animal en la preceba
- Precio de venta del kg de preceba
- Ingreso bruto por animal
- Ingreso neto por animal
- Ganancia contra control / animal
- Cantidad de animales finalizados
- Ingreso neto por tratamiento
- Ganancia contra control / tratamiento

Ubicación y dieta en los cerdos.

Los cerdos se ubicaron a razón de 5 cerdos/cubículo respetando el espacio vital por animal recomendado por el Instructivo Técnico Porcino (2010) y el sistema de alimentación que se aplicó fue a voluntad, según las recomendaciones de este material de consulta. Los aportes del pienso convencional utilizado se muestran en la tabla 2.

Tabla 2. Composición y aporte del pienso convencional

Materias primas	Porcentaje de inclusión
Harina de maíz	57.48
Harina de soya	39.49
Fosfato dicálcico	1.00
Carbonato de calcio	1.13
Sal común	0,35
Premezcla Vitamínica	0.45

Colina	0.10
Aportes	
Proteína bruta, %	21.0
Energía Digestible, MJ / Kg	16.15
Calcio, %	0.75
Fósforo total, %	0.31

Se tomaron además tres muestras aleatorias en tres momentos del experimento (1; 21 y 42 días) del Bioloc para determinar la concentración de bacterias totales y levaduras, para lo cual se realizaron diluciones seriadas de las muestras (1:10, p/v) en medio diluyente hasta 10^{-2} . Todas las muestras fueron analizadas en el laboratorio de microbiología de la Facultad Agroforestal de la Universidad de Guantánamo, según las normas establecidas para cada tipo de microorganismo investigado.

Experimento 2. Empleo del fermentado de calabaza en precebas porcinas

Diseño Experimental

Se utilizaron 30 cerdos en preceba del Híbrido Yorkshire x Landrace, de peso promedio de 7 kg, durante 42 días, coincidiendo entre los 33 a los 76 días de edad de los cerdos, según diseño completamente aleatorizado con tres tratamientos y diez repeticiones, cada cría se considero como una repetición y se identificaron con numeración en la oreja derecha. Los tratamientos empleados se describen a continuación:

Tratamientos evaluados

Tratamiento 1: Control donde los cerdos solo consumieron la dieta convencional sin Fermentado de Calabaza (FC).

Tratamiento 2: 15 % de Fermentado de Calabaza más 85% de Pienso Convencional (PC).

Tratamiento 3: 30 % de Fermentado de Calabaza más 70% de Pienso Convencional (PC).

Indicadores evaluados en los cerdos

Los indicadores evaluados fueron los mismos que los descritos en el experimento 1 del presente material de tesis.

Indicadores económicos siguientes:

Los indicadores económicos evaluados fueron los mismos que los del experimento.

Ubicación y dieta en los cerdos

Los cerdos se ubicaron a razón de 5 cerdos/cubículo respetando el espacio vital por animal recomendado por el Instructivo Técnico Porcino (2010) y el sistema de alimentación que se aplicó fue a voluntad, según las recomendaciones de este material de consulta. Los aportes del pienso convencional utilizado se muestran en la tabla 3.

Tabla 3. Composición y aporte del pienso convencional

Materias primas	Porcentaje de inclusión
Harina de maíz	57.48
Harina de soya	39.49
Fosfato dicálcico	1.00
Carbonato de calcio	1.13
Sal común	0,35
Premezcla Vitamínica	0.45
Colina	0.10
Aportes	
Proteína bruta, %	21.0
Energía Digestible, MJ / Kg	16.15
Calcio, %	0.75
Fósforo total, %	0.31

La tabla 4 muestra la composición en materias primas y el costo de la calabaza fermentada. Todas estas materias primas se mezclaron homogéneamente durante 5 minutos y luego se dejaron en reposo por 9 días, tiempo a partir del cual estaba lista para ser utilizada como alimento en los cerdos.

Tabla 4. Composición de la calabaza fermentada:

Materias Primas	% de Inclusión	Costo \$ CUP
Calabaza	76.6	300.00/t
Melaza	10.0	150.00/t
Biolac	3.0	0.95/l
Fosfato	0.2	1500.00/t
Premezcla	0.2	1800.00/t
Soya	5.0	2500.00/t
Maíz	5.0	1800.00/t
Costo de la tonelada de Calabaza Fermentada		494.90/t

El estudio de los elementos químicos se realizó en el laboratorio de química analítica del Instituto de Ciencia Animal, según las técnicas de la AOAC (2000).

El fermentado de calabaza se aplicó a los cerdos siguiendo el esquema que se muestra en la tabla 5 mezclado con el pienso, y se suministró en el mismo horario de este último.

Tabla 5. Consumo diario por animal por tratamiento.

Preceba	Edades (días)	Consumo diario (Control)	Consumo diario 15% FC		Consumo diario 30% FC	
		Pienso g	Pienso g	CF L	Pienso g	CF L
1	34-41	250	212	0.3	175	0.6
2	41-48	490	420	0.3	340	0.6
3	48-55	680	578	0.4	476	0.8
4	55-62	920	782	0.4	644	0.8
5	62-69	1140	969	0.6	798	1.2
6	69-76	1450	1232	0.6	1015	1.2
Acumulado de alim, kg % MS		34.51 (88%)	29.35 (88%)	18.2 (25%)	24.13 (88%)	36.4 (25%)
Acumulado de MS, kg		30.37	25.83	4.55	21.23	9.10

Se tomaron tres muestras aleatorias en tres momentos del experimento (1; 21 y 42 días) del fermentado de calabaza para determinar la concentración de bacterias totales y levaduras, para lo cual se realizaron diluciones seriadas de las muestras (1:10, p/v) en medio diluyente hasta 10^{-2} . Todas las muestras fueron analizadas en el laboratorio de microbiología de la Facultad Agroforestal de la Universidad de Guantánamo, según las normas establecidas para cada tipo de microorganismo investigado.

IV. RESULTADOS Y DISCUSION

Experimento 1. Uso del Biolac en preceadas porcinas

Entre los microorganismos más utilizados como probióticos se encuentran las bacterias ácido láctico (BAL), fundamentalmente *Lactobacillus* (Fuller 1992). También se emplean *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Bacillus*, *Bifidobacterium*, *Propionibacterium*, *Aspergillus*, *Bacteroides*, *Pediococcus*, *Leuconostoc* y levaduras (Tobey 1992). Además, se incluyen cepas *Escherichia coli* no patógenas (Borrueal 2005).

Todo producto antes su uso como probiótico debe al menos considerarse su concentración en aquellos microorganismos que son capaces de promover el posible efecto probiótico (Casula y Cutting, 2002), de ahí que la presencia de bacterias totales y específicamente levaduras son una prueba del posible funcionamiento del producto.

En las tablas 6 y 7 se presentan estos microorganismos los cuales se determinaron en tres momentos del experimento (al inicio, intermedio y final). Para la concentración de bacterias totales se observa (fotos 2; 3 y 4) como estas se incrementan significativamente en la medida que se incrementó el tiempo de fabricado el Biolac.

Tabla 6. Concentración de bacterias totales en el Biolac en tres momentos del experimento.

Bacterias totales	Días de experimento			EE ±
	1	21	42	
Bacterias totales, ufc.10 ⁻⁷ /ml	17.16 ^b	18.16 ^{ab}	20.33 ^a	0.75 *

^{ab}: Letras dentro de la misma fila difieren a P<0.05 (Duncan 1955)

En este sentido García (2009) observó como en el producto vitafer también se incrementaba la concentración de microorganismos con efecto probiótico con el paso del tiempo hasta alcanzar la estabilidad en la concentración microbiana, aspecto que no fue determinado en la presente tesis.

Las concentraciones de microorganismos con efecto probiótico es uno de los factores que pueden incidir en la respuesta de los animales (Kim *et al.* 2012). Los microorganismos al ser ingeridos deben resistir la acidez gástrica y las sales biliares, que son las primeras barreras que limitan su supervivencia en el ecosistema gastrointestinal (Noriega *et al.* 2004). De ahí que, al suministrar concentraciones superiores, los microorganismos tienen mayores posibilidades de sobrevivir y poder ejercer, posteriormente, su actividad probiótica. Las concentraciones empleadas en el presente experimento se encontraron en el rango sugerido por la FAO/WHO (2002), quienes plantearon que los probióticos deben tener una concentración de 10^6 a 10^7 células mL^{-1} o g^{-1} para garantizar su eficacia.

La concentración de levaduras (fotos 5; 6 y 7) también mostró un incremento significativo con el paso del tiempo aspecto que consideramos como positivo por el probado efecto beneficioso que promueven en los animales (Gutiérrez 2011 y Ortiz *et al.* 2017).

Según Llevats 2004 las levaduras son organismos pertenecientes al reino de los hongos: Como tales, son organismos heterotróficos por el hecho de que solo pueden alimentarse de materia ya preformada. Las levaduras están distribuidas en casi todos los hábitats naturales. Son comunes en las hojas de las plantas y en las flores, también se encuentran en la superficie de la piel y en el tracto intestinal de los animales de sangre caliente donde pueden vivir en simbiosis o como parásitos.

Tabla 7. Concentración de Levaduras en el Biolac en tres momentos del experimento.

Bacterias totales	Días de experimento			EE ±
	1	21	42	
Levaduras, ufc.10 ⁻⁶ /ml	11.6 ^b	12.0 ^b	14.2 ^a	0.62*

^{ab}: Letras dentro de la misma fila difieren a P<0.05 (Duncan 1955)

Desde el punto de vista nutricional las levaduras cobran hoy en día una gran importancia debido a su elevado valor proteico (Rodríguez 2011) el cual se expresa en términos de proteína bruta. Sin embargo, es importante señalar que una fracción puede llegar hasta el 50 %. Los componentes más importantes de la levadura son la proteína, minerales y las vitaminas sobre todo las del complejo B.

El incremento de la eficiencia en los sistemas intensivos y semi-intensivos de producción porcina se puede lograr cuando se emplean aditivos alimentarios (Davies 2011). A su vez, el uso de estos productos contribuye a controlar patologías digestivas y respiratorias. Para estos fines, durante décadas se aplicaron, en dosis bajas y de forma masiva, los antibióticos como promotores del crecimiento animal (Cajarville *et al.* 2011). Sin embargo, su utilización en la alimentación de animales destinados al consumo humano, se relaciona con la crisis de salud global por la resistencia a los antimicrobianos.

A nivel internacional, varias jurisdicciones respondieron a través de la restricción o prohibición del uso de estos productos (Maron *et al.* 2013). Esta situación condujo a que diferentes grupos de investigación se centraran en el estudio y desarrollo de alternativas para mantener la salud de los animales y el rendimiento productivo. Dentro de estas alternativas se incluyen probióticos, prebióticos, acidificantes, enzimas, extractos vegetales y nutracéuticos (Thacker 2013).

Según Prats (1999) la introducción de un probiótico es un evento natural que beneficia las interacciones naturales y complejas de la microbiota intestinal. Sus efectos positivos no sólo serán a nivel del TGI, sino que se reflejarán también en resultados zootécnicos, como son la ganancia de peso vivo y la conversión alimentaria.

La tabla 8 muestra como el probiótico Biolac estimuló el peso vivo final, la ganancia de peso y la ganancia media diaria aspecto que se justifica por los probados efectos benéficos que promueven estos en el tracto gastrointestinal, en este sentido una de las probadas acciones de los probiótico es precisamente reducir en el intestino las concentraciones de bacterias coliformes por el fenómeno de exclusión competitiva. Al respecto García (2011) plantea que esta definición hace hincapié en la presencia de microorganismos viables, en número suficiente para provocar los efectos beneficiosos sobre la salud, a través de una alteración positiva de la microflora por colonización del intestino.

Flores (2015) en Ecuador al utilizar un preparado microbiano en dosis de 5; 10 y 15 ml / kg PV en la dieta de cerdos, obtuvo que las dosis utilizadas incrementaron el peso final en 1.1; 3.82; 5.56 kg por animal respectivamente en los cerdos en post destete con respecto al control.

Tabla 8. Comportamiento productivo de los animales empleados en la etapa de preceba.

Indicadores	Probiótico Biolac		EE ±
	Control sin Biolac	Adición de Biolac	
Peso Inicial, Kg	7.0	7.0	0.05
Peso Final, Kg	27.3	28.6	0.24 *
Ganancia de Peso, Kg	20.3	21.6	0.30 *
Ganancia Media Diaria, g/día	483	514	6.32 *
Consumo, Kg	34.5	34.5	-

Conversión, Kg pienso/Kg PV	1.70	1.60	0.09
-----------------------------	------	------	------

P<0.05 (Duncan 1955)

En la literatura científica se proponen varias acciones de los probióticos, aunque no se conocen con exactitud los mecanismos por los que se producen los efectos. Se plantea que estos microorganismos crean un complejo con las bacterias propias del animal para favorecer los mecanismos de defensa, la producción de sustancias antimicrobianas, la disminución del pH intestinal, la reducción del crecimiento de patógenos, la estimulación de la actividad de macrófagos y linfocitos, lo que influye en mejores rendimientos productivos (Pratt *et al.* 2002; Smolander *et al.* 2004 y Milián 2009). Además, pueden ejercer acción hipocolesterolemica y alteración del metabolismo microbiano y del hospedero, así como estimular la respuesta inmunitaria.

Los probióticos son uno de los aditivos alimentarios más estudiados y se definen como microorganismo(s) vivo(s) que cuando se adicionan en cantidades adecuadas influyen benéficamente en la salud del huésped (FAO/WHO 2002). La aplicación de estos productos en la alimentación de cerdos puede modular la respuesta inmune y mejorar los parámetros zootécnicos de conversión alimenticia y ganancia de peso vivo final. Además, se pueden utilizar en el tratamiento de enfermedades infecciosas digestivas, como la diarrea, lo que aporta un beneficio económico importante en la industria porcina (Jurado *et al.* 2013).

La baja incidencia de diarreas en el grupo que consumió el probiótico Biolac (tabla 9) muestra el efecto protector de este producto en los cerdos en preceba, los cuales presentaron durante todo el estudio un solo animal con diarrea y con la mínima frecuencia, sin embargo en el grupo que no consumió este producto fueron seis los animales afectados y con una frecuencia diaria de tres diarreas por animal enfermo, lo cual conllevó a que en este tratamiento se presentaran dos muertes por deshidratación. Las fotos 8 y 9 muestran el aspecto de las heces fecales en cada tratamiento.

Tabla 9. Diarreas presentadas por los animales durante la preceba.

Indicadores	Probiótico Biolac	
	Control sin Biolac	Adición de Biolac
Cantidad de animales	15	15
Animales con diarrea (Primeros 15 días de estancia)	6	1
Cerdos con diarrea (16 a 30) días de estancia)	3	0
Cerdos con diarrea (31 a 45 días de estancia)	0	0
Frecuencia de la diarrea	3	1
Morbilidad, %	40.0	6.6
Mortalidad, %	13.3	0.00
Viabilidad, %	86.7	100
Muertes, no. de animales	2	0

Flores (2015) al utilizar un preparado microbiano obtenido en Ecuador en dosis de 5; 10 y 15 ml / kg PV en la dieta de cerdos, obtuvo que las dosis utilizadas mejoraron la salud y redujeron la presentación de diarreas en los cerdos en post destete en 17.71; 33.14 y 41.15 % respectivamente con respecto al control.

El mecanismo por el cual los *Lactobacillus* presentan efecto inhibitorio sobre bacterias patógenas fue explicado desde décadas anteriores por (Havenaar y Huis in't Veld, 1992) y (De Vuyst, 1998), quienes plantearon que las bacteriocinas producidas por las levaduras actúan contra bacterias Gram positivas, especialmente contra microorganismos relacionados taxonómicamente.

Sin embargo, existen bacteriocinas como la acidolina que inhibe bacterias Gram positivas y Gram negativas. Por ejemplo, *Lactobacillus acidophilus*, entre

otras muchas especies, puede producir bacteriocinas en altas proporciones con notable efecto contra patógenos como coliformes y bacterias de los géneros *Salmonella* y *Campylobacter* (Coventry *et al.* 1997 y Tahara y Kanatani 1997).

Autores como Cortés y Gómez (2011); Rodríguez *et al.* (2013) y Rondón *et al.* (2013) utilizaron en cerdos recién destetados preparados con bacterias lácticas y levaduras y lograron disminuir los trastornos intestinales como diarrea y bajo rendimiento del crecimiento de los animales. Los autores le atribuyeron este efecto beneficioso fundamentalmente, a las posibilidades de los microorganismos a mejorar la salud intestinal de los animales, modular su sistema inmune y, por ende, incidir de forma favorable en los rendimientos productivos, con ventajas económicas.

Por otra parte, según Czerucka *et al.* (2007) y Moslehi-Jenabian *et al.* (2010), las levaduras como *S. cerevisiae* var. *boulardii* confieren efectos beneficiosos contra patógenos entéricos a través de numerosos mecanismos. Éstos pueden ser la prevención de la adherencia y translocación en células epiteliales del TGI, producción de factores que neutralizan toxinas bacterianas y modulación de las células del hospedero que emiten señales asociadas con la respuesta pro inflamatoria durante la infección bacteriana.

Análisis económico

Los problemas fundamentales que se presentan con el uso de probióticos se centran en los altos precios de estos productos, la viabilidad de los microorganismos y la variabilidad de los resultados de su aplicación en los animales (Faria *et al.* 2006). Esto último se debe fundamentalmente a la influencia de factores como el género, especie(s) o cepa(s) a emplear, edad y estado fisiológico de los animales y condiciones experimentales, de ahí que la producción y uso de probióticos alternativos que funcionen eficientemente en los animales cobra hoy en día vital importancia para reducir la dependencia de fuentes extranjeras de elevado costo.

Partiendo del costo de la tonelada de pienso (2222.00 \$ CUP/t) y el precio de un litro de Biolac (0.95 \$ CUP/t) se calculó el impacto económico en la preceba (tabla 10) asociado al uso del probiótico Biolac.

Como se muestra en la tabla 10 se obtuvo un incremento de 1389.75 pesos CUP en el tratamiento que incluyó el Biolac con respecto al control, esta diferencia se acentuó por las muertes en el tratamiento sin Biolac por lo que no generaron ingreso. Estos resultados prueban el beneficio productivo y económico obtenido con el uso de este probiótico alternativo, en este sentido en el sector no estatal estas prácticas son generalizadas no solo por los beneficios económicos también por el control de enfermedades entéricas, afecciones éstas muy frecuente en las precebas que reciben los convenios porcinos.

Tabla 10. Impacto económico por animal en la preceba con el uso del Biolac.

Indicadores	Producto Biolac	
	Control sin Biolac	Adición de Biolac
Consumo de pienso, kg	34.5	34.5
Consumo de Biolac, Litro	0.00	0.92
Costo del pienso consumido, \$ CUP	76.65	76.65
Costo del Biolac consumido, \$ CUP	0.00	0.87
Costo total de la dieta	76.65	77.52
Peso final por animal en la preceba	27.3	28.6
Precio de venta del kg de preceba	21.00	21.00
Ingreso bruto por animal	573.30	600.60
Ingreso neto por animal	496.65	523.08
Ganancia contra control / animal	-	26.43
Cantidad de animales finalizados	13	15
Ingreso neto por tratamiento	6 456.45	7 846.20
Ganancia contra control / tratamiento	-	1389.75

En estudios realizados por Flores (2015) con tres dosis distintas de preparado con efecto probiótico demostró de forma general, que el empleo del preparado microbiano en el comportamiento productivo y sanitario de cerdos en post destete fue superior al tratamiento control y aporta mayor relación beneficio - costo. De las tres dosis aplicadas, la de 15 mL de preparado microbiano / kg PV fue la más efectiva y brindó mayor beneficio - costo.

Experimento 2. Empleo del fermentado de calabaza en precebas porcinas

Según García (2004) en todos los alimentos es de suma importancia conocer las bondades químicas que aportan, dígame niveles de proteína, fibra, energía y minerales; de esta forma se sabe cómo balancear las dietas de los animales. Al mismo tiempo es necesario determinar la presencia de los compuestos antinutricionales en el propio alimento que pueden afectar el comportamiento animal en cuanto al consumo, digestibilidad y absorción de nutrientes. Se debe destacar que en el presente material de tesis este último aspecto no fue objetivo de investigación.

Se destaca en la composición química de la calabaza fermentada (tabla 11) su elevado contenido en proteína y de ésta su alto por ciento de digestibilidad superior a la de alimentos proteicos convencionales como la soya y el girasol, según reportes de la FAO (2014). Posee un excelente aporte en minerales y la fibra bruta se encuentra en el rango permisible para los cerdos en ceba en confinamiento.

Tabla 11. Composición química de la calabaza fermentada

Composición	%
Materia Seca	25.0
Proteína Bruta	18.0
Proteína Degradable	61.0
Fibra Bruta	4.0
Ceniza	11.0
Fósforo	0.9
Calcio	1.4
pH	3.86

En la actualidad se desarrollan diversas investigaciones para incrementar el valor nutricional y reducir las limitantes nutricionales de diferentes productos. Una de

estas alternativas es por vía de la fermentación, a través de la cual se pueden obtener alimentos energético-proteicos biotransformados en sus diferentes variantes donde se incluyen fuentes energéticas y proteínicas para mejorar la calidad y digestibilidad del producto que se fermenta (Ramos *et al.*, 2006; Becerra *et al.*, 2008; Elías y Herrera, 2008 y Díaz, 2014).

Por lo anteriormente expuesto, es necesario conocer el efecto que producen los procesos fermentativos en el valor nutritivo de un determinado alimento ya que este proceso puede incrementar la concentración de microorganismos con potencialidades probióticas y con ellos lograr mejores resultados en los animales que lo consumen (Brea 2015).

El término probiótico se informó por primera vez por Lilly y Stilwell (1965) para describir las sustancias producidas por un microorganismo que estimula el crecimiento de otro. Este concepto evolucionó y en el año 2001 la FAO y la Organización Mundial de la Salud (WHO de sus siglas en inglés) crearon una comisión de expertos para esclarecer dicho término, debido a la rápida incorporación de este tipo de productos en el mercado y su distribución en el ámbito internacional, sin la existencia previa de una normativa comúnmente aceptada (Sanz *et al.* 2003).

En la actualidad para definir un probiótico, se utiliza la definición emitida por la FAO y WHO (2001), que se refiere a microorganismos vivos que al ser administrados en cantidades adecuadas proporcionan o generan efectos benéficos en la salud del huésped. Es importante señalar que estos microorganismos no deben ser patógenos ni producir efectos colaterales adversos. Además, constituyen una alternativa al uso de antibióticos promotores del crecimiento animal.

Las concentraciones de microorganismos con efecto probiótico es uno de los factores que puede incidir en la respuesta de los animales (Kim *et al.* 2012). Los

microorganismos al ser ingeridos deben resistir la acidez gástrica y las sales biliares, que son las primeras barreras que limitan su supervivencia en el ecosistema gastrointestinal (Noriega *et al.* 2004).

De ahí que, al suministrar concentraciones superiores, los microorganismos tienen mayores posibilidades de sobrevivir y poder ejercer, posteriormente, su actividad probiótica. Las concentraciones empleadas en el presente experimento se encontraron en el rango sugerido por la FAO/WHO (2002), quienes plantearon que los probióticos deben tener una concentración de 10^6 a 10^7 células mL^{-1} o g^{-1} para garantizar su eficacia.

La tabla 12 muestra las bacterias totales con capacidad probiótica las cuales se determinaron en tres momentos del experimento (al inicio, intermedio y final). Para estos microorganismos se observa (fotos 10; 11 y 12) como estas se incrementan significativamente en la medida que se incrementó el tiempo de elaboración del fermentado de calabaza, en este sentido García (2010) observó como en el producto Vitafer también se incrementaba la concentración de microorganismos con efecto probiótico con el paso del tiempo hasta alcanzar la estabilidad en la concentración microbiana, aspecto que no fue determinado en la presente tesis.

Tabla 12. Concentración de bacterias totales en el fermentado de calabaza en tres momentos del experimento.

Bacterias totales	Días de experimento			EE \pm
	1	21	42	
Bacterias totales, ufc. $10^{-7}/\text{ml}$	28.28 ^b	30.14 ^{ab}	33.14 ^a	1.07 *

^{ab} Letras dentro de la misma fila difieren a $P < 0.05$ (Duncan 1955)

A concentración de levaduras (tabla 13) también mostró un incremento significativo con el paso del tiempo (fotos 13; 14 y 15) aspecto que consideramos

como positivo por el probado efecto beneficioso que promueven estos microorganismos en el tracto gastro intestinal de los animales (Gutiérrez 2011 y Ortiz *et al.* 2017).

Tabla 13. Concentración de Levaduras en el fermentado de calabaza en tres momentos del experimento.

Levaduras totales	Días de experimento			EE ±
	1	21	42	
Levaduras totales, ufc.10 ⁶ /ml	8.33 ^b	10.83 ^a	10.83 ^a	0.42*

^{ab} Letras dentro de la misma fila difieren a P<0.05 (Duncan 1955)

Uno de los mecanismos utilizados por los probióticos para la exclusión de microorganismos que no son originarios del TGI es la competencia por nutrientes. Según Hentges (1992) los mecanismos de control de las poblaciones bacterianas en el intestino concuerdan con la teoría del quimiostato, en la que una mezcla de bacterias en un cultivo de flujo continuo compite por los nutrientes esenciales para el crecimiento. Esta hipótesis fue apoyada por Jonsson y Conway (1992), quienes plantearon que la colonización *in vivo* de un sitio de la mucosa gastrointestinal involucra muchos más aspectos que la simple adhesión al epitelio. Según Czerucka *et al.* (2006) y Moslehi-Jenabian *et al.* (2010), las levaduras como *S. cerevisiae* var. *boulardii* confieren efectos beneficiosos contra patógenos entéricos a través de numerosos mecanismos. Estos pueden ser la prevención de la adherencia y translocación en células epiteliales del TGI, producción de factores que neutralizan toxinas bacterianas y modulación de las células del hospedero que emiten señales asociadas con la respuesta pro-inflamatoria durante la infección bacteriana.

La alimentación del cerdo recién destetado es uno de los aspectos más críticos en las explotaciones porcinas y supone todo un reto para los nutricionistas y

formuladores. La dieta que se suministre al lechón debe ser de excelente calidad nutricional a la vez que minimice el estrés al destete, lo que le permitirá al cerdito, que es separado de su madre en un estadio temprano de su vida, poder desarrollarse adecuadamente en su nuevo ambiente (Pluske *et al.* 2003).

Por tanto, en el desarrollo del programa de alimentación para esta categoría, que tendrá un efecto significativo sobre los rendimientos futuros, es importante tener en cuenta factores como: edad al destete, estado fisiológico del lechón, composición o valor nutricional de la dieta, requerimiento nutricional, desarrollo morfológico del tracto gastrointestinal y del sistema inmune intestinal y comportamiento del cerdo (Campabadal y Navarro 1994 y Reis de Souza *et al.* 2005).

La alimentación y el manejo de los animales son los factores que más influyen en la manipulación de su ecosistema gastrointestinal. Así cuando se consumen probióticos se puede alterar el metabolismo microbiano y del hospedero (Nomoto 2000). Se plantea que la ingestión de Bacterias Ácidos Lácticas, que producen y liberan enzimas hidrolíticas, puede ayudar a los procesos digestivos de los animales de granja (Seifert y Gessler 1996).

La tabla 14 muestra como al sustituir el 15 y el 30 % del pienso convencional por el fermentado de calabaza, no se afectaron los indicadores productivos de los cerdos en preceba, lo cual indica que aún cuando en las dietas investigadas aportaran menos cantidad de proteína bruta y energía que el control, estas por su alta digestibilidad de la proteína y concentraciones en levaduras, ejercieran un efecto positivo en la digestibilidad y absorción de los nutrientes en el tracto digestivo de los cerditos, lo cual promovió excelentes ganancias de peso vivo diario y final, lo que a su vez estimuló la conversión de la MS.

Tabla 14. Comportamiento productivo de los animales empleados en la etapa de preceba con la inclusión de la dieta de calabaza fermentada.

Indicadores	Control	Calabaza Fermentada		EE ±
		15 %	30 %	
Peso Inicial, Kg	7.0	6.9	7.0	0.04
Peso Final, Kg	27.3	28.0	27.5	0.22
Ganancia de Peso, Kg	20.3	21.1	20.5	0.33
Ganancia Media Diaria, g/día	483	502	488	6.90
Consumo total, Kg	34.5 ^c	47.55 ^b	60.53 ^a	3.40 *
Consumo MS, Kg	30.37	30.38	30.33	0.07
Conversión, Kg alimento/Kg PV	1.70 ^c	2.25 ^b	2.95 ^a	0.09 *
Conversión, Kg MS /Kg PV	1.50	1.44	1.48	0.05

^{abc} Letras dentro de la misma fila difieren a $P < 0.05$ (Duncan 1955)

El consumo total y la conversión del alimento en base húmeda se incrementaron con 15 y 30 % de calabaza fermentada con respecto al control, debido al elevado contenido en húmeda de este alimento fresco, sin embargo, con respecto a la materia seca total consumida fue prácticamente igual entre los tres tratamientos y no existió diferencias significativas entre ellos.

En investigaciones anteriores, Brea *et al.* (2014) al estudiar diferentes niveles de inclusión (0, 10, 15 y 20%) de harina de frutos del árbol del pan (HFP) sin fermentar, determinaron como límite máximo, hasta un 15%, sin provocar cambios en los indicadores productivos como sustituto parcial de la harina de maíz en dietas para cerdos en preceba. Sin embargo, al incorporar 20% de HFP, disminuyó el peso vivo final, GMD y empeoró la conversión alimenticia, con respecto al control.

Más tarde esta autora (Brea, 2015) fermentó la harina del fruto del árbol del pan y logró incluirla en cerdos en preceba hasta niveles del 25 % sin alterar el peso final

de los animales, el consumo y la conversión; lo cual demuestra la factibilidad productiva de fermentar alimentos para cerdos recién destetados.

Los probióticos, también, pueden crear temporalmente un microambiente favorable para que crezcan otros microorganismos intestinales y que se produzca una respuesta de tipo probiótica (Balcázar *et al.* 2006). Tal es el caso de las levaduras que sintetizan vitaminas del complejo B, las que estimulan el crecimiento de las poblaciones de *Lactobacillus* y bacterias acetogénicas (Ruiz y Jiménez 1995 y Yoo *et al.* 1997) y provoca una acción sinérgica y efectos beneficiosos para el huésped. Los lactobacilos, además, son capaces de fermentar carbohidratos que no son digeridos por el hospedero como los fructanos (García 2010).

Las levaduras, como se conoce, también se emplean en preparaciones probióticas y sus efectos pueden depender de la cepa o especie evaluada. Según Castro y Rodríguez (2005), las levaduras no colonizan el tracto digestivo, pero pueden estimular las disacaridasas de las microvellosidades del tracto gastrointestinal, estimular la inmunidad innata e inducir efectos antiadhesivos y antagonistas frente a patógenos, que se traducen en la mejora de los rendimientos productivos de especies monogástricas. Probablemente, las levaduras presentes en el fermentado de calabaza ejercieran estas acciones e incidieran en la respuesta positiva de los cerditos.

El destete impone un gran estrés en lechones y se acompaña de cambios fisiológicos, microbiológicos e inmunológicos en el tracto gastrointestinal (Brooks *et al.* 2001). Debido a estos cambios, el período después del destete se caracteriza por una alta incidencia de trastornos intestinales con diarrea y bajo rendimiento del crecimiento de los animales (Williams 2003 y Lalles *et al.* 2004).

En este sentido las diarreas presentadas por los cerditos en los tratamientos evaluados se muestran en la tabla 15, donde se observa el efecto protector de la

calabaza fermentada, quien no promovió muertes durante la preceba y apenas un solo animal con diarrea en el tratamiento de 15 % de calabaza fermentada, siendo nula esta afección con 30 % de calabaza fermentada. Sin embargo, en el control se presentaron 4 animales con diarrea durante los primeros 15 días de experimento y 2 en la segunda quincena, con una frecuencia de tres diarreas al día por animal para ambas etapas, lo que arrojó al final del experimento una muerte de un animal.

Tabla 15. Diarreas presentadas por los animales durante la preceba.

Indicadores	Control	Calabaza Fermentada	
		15 %	30 %
Cantidad de animales	10	10	10
Animales con diarrea (Primeros 15 días de estancia)	4	1	0
Cerdos con diarrea (16 a 30) días de estancia)	2	0	0
Cerdos con diarrea (31 a 45 días de estancia)	0	0	0
Frecuencia de la diarrea	3	1	0
Morbilidad, %	40.0	5.55	0
Mortalidad, %	10.0	0.00	0
Viabilidad, %	90.0	100	100
Muertes, no. de animales	1	0	0

Autores como Cortés y Gómez (2011); Rodríguez *et al.* (2013) y Rondón *et al.* (2013) utilizaron en cerdos recién destetados preparados con bacterias lácticas y levaduras y lograron disminuir los trastornos intestinales como diarrea y bajo rendimiento del crecimiento de los animales. Los autores le atribuyeron este efecto beneficioso fundamentalmente, a las posibilidades de los microorganismos a mejorar la salud intestinal de los animales, modular su sistema

inmune y, por ende, incidir de forma favorable en los rendimientos productivos, con ventajas económicas.

Análisis económico

En la tabla 16 se muestra un incremento de 792.93 pesos CUP en el tratamiento que incluyó 15 % de calabaza fermentada con respecto al control, mientras que 30 % de calabaza fermentada generó 691.93 pesos CUP con respecto al control. Esta diferencia se acentuó por una muerte en el tratamiento control por lo que este animal no generó ingreso.

Tabla 16. Impacto económico por animal en la ceba.

Indicadores	Control	Calabaza Fermentada	
		15 %	30 %
Consumo de pienso, kg	34.51	29.35	24.13
Consumo de Calabaza fermentada	0.00	18.2	36.4
Costo del pienso consumido, \$ CUP	76.68	52.83	43.43
Costo de la calabaza fermentada consumida, \$ CUP	0.00	9.00	18.00
Costo total de la dieta	76.68	61.83	61.43
Peso final por animal en la preceba	27.3	28.0	27.5
Precio de venta del kg de preceba	21.00	21.00	21.00
Ingreso bruto por animal	573.21	588.00	577.50
Ingreso neto por animal	496.53	526.17	516.07
Ganancia contra control / animal	-	29.64	19.54
Cantidad de animales finalizados	9	10	10
Ingreso por tratamiento	4 468.77	5 261.70	5 160.70
Ganancia contra control / tratamiento	-	792.93	691.93

Los resultados demuestran el beneficio económico obtenido con el uso de este producto fermentado. En este sentido estas prácticas deben ser generalizadas no solo por los beneficios económicos, sino también por el control de enfermedades entéricas, afecciones estas muy frecuentes en las precebas que reciben los convenios porcinos, lo cual implica grandes gastos en medicamento, causando descontentos para los productores y pérdidas para la empresa porcina, ya que esta última debe reponer todas las muertes que ocurren antes de los 15 días de entregados los animales.

Los precios actuales del maíz y la soya en el mercado internacional y otros alimentos convencionales, son sin duda la causa fundamental de los altos costos de producción en el mercado del cerdo y los resultados que aquí se muestran no escapan de este fenómeno que día a día será más costoso e insostenible si no se adoptan políticas en contra de los biocombustibles o se buscan nuevas alternativas de alimentación para cerdos.

V. CONCLUSIONES

1. El uso del producto alternativo Biolac como aditivo en cerdos en preceba mejora significativamente los indicadores productivos de los cerdos en crecimiento, al tiempo que reduce las ocurrencias de diarreas y evita las muertes en esta categoría tecnológica.
2. El fermentado de calabaza como sustituto parcial del pienso convencional en cerdos en preceba no afectó los indicadores productivos de los cerdos en crecimiento, redujo las ocurrencias de diarreas y evitó las muertes.
3. Con el uso del Biolac y el fermentado de calabaza se obtiene significativas ganancias económicas por tratamiento, posibilitando además sustituir medicamentos de importación, así como pienso convencional respectivamente.
4. El Biolac y el fermentado de calabaza resultaron alternativas eficientes de producir alimentos con efectos probióticos y mejorar la calidad nutritiva del pienso suministrado, posibilitando su aprovechamiento y absorción, promoviendo además el desarrollo y eficiencia productiva sin la dependencia de fuentes extranjeras.

VI. RECOMENDACIONES

1. Promover la producción y uso del Biolac y fermentado de calabaza en granjas porcinas estatales de la provincia de Guantánamo, así como en el sector privado, con lo cual se incrementaría la bioseguridad y la independencia de fuentes de alimentos importados.
2. Realizar nuevos estudios con el Biolac y el fermentado de calabaza en otras categorías porcinas y/o especies de animales en la provincia Guantánamo que permitan generar una mayor información científica y práctica, acordes a los Lineamientos del Partido, con vista a incrementar la calidad y cantidad de alimentos para la población.
3. Incorporar los resultados de este material de tesis en la docencia de pre y postgrado, así como en los programas de extensionismo dentro y fuera del país.

VII. BIBLIOGRAFÍA

1. Alvarez-Solas, J., Montoya, M., Ritz, C., Ramstein, G., Charbit, S., Dumas, C., Nisancioglu, K., Dokken, T., and Ganopolski, A.: Heinrich. 2011. event 1: an example of dynamical ice-sheet reaction to oceanic changes, *Clim. Past Discuss.*, 7, 1567–1583, doi:10.5194/cpd-7-1567-2011.
2. Anon, 2000. Antibióticos y otros promotores del crecimiento en la avicultura. *Industria Avícola*. Julio: 14-18.
3. Anon, 2014. *Lactobacillus*. Disponible en: <http://es.wikipedia.org/wiki/Lactobacillus>.
4. Anupama, P. y Ravindra, L. 2001. Value-added food: Single cell protein. *Biotechnology Advances* 18, 459-479.
5. Arabel Elías Iglesias y Félix R. Herrera. Producción de alimento para animales a través de procesos biotecnológicos sencillos con el empleo de Microorganismos Beneficiosos Activados (MEBA). Vitafert.
6. Balcázar, J.L., de Blas, I., Ruiz-Zarzuela, I., Vendrell, D., Cunningham, D. & Muzquiz, J.L. (2006). The role of probiotics in aquaculture. *Veterinary Microbiology*. 114: 173-186.
7. Bayona, M. 2002. Capacidad probiótica in vitro de cepas nativas de *Saccharomyces boulardii* frente a *Cándida* sp, *Shigella* sp y *Salmonella* sp. XVIII Congreso Panamericano de Ciencias Veterinarias. Palacio de las Convenciones. Ciudad de La Habana, Cuba.
8. Becerra, A., Rodríguez, C., Jiménez, J., Ruiz, O., Elías A. & Ramírez, A. 2008. Urea y maíz en la fermentación aeróbica de bagazo de manzana para la producción de proteína. *Tecnología Chihuahua* 2:7
9. Bengmark, S. & Lucchini L, (1998). Ecological control of the gastrointestinal tract. The role of probiotic flora. *Gut*. 42:2-7.
10. Benito, J. 1996. Porcinocultura intensiva y extensiva. In: *Zootecnia. Bases de Producción Animal*. Ediciones Mundial-Prensa. Madrid, 6:317-331.
11. Blake, D.P., Hillman, K. & Fenlon, D.R. 2003. The use of a model ileum to investigate the effects of novel and existing antimicrobials on indigenous

- porcine gastrointestinal microflora: using vancomycin as an example. *Animal Feed Sci. And Tech.* 103:123.
12. Brooks, P.H., Moran, C.A., Beal, J.D., Demeckova, V. & Campbell., A. (2001). Liquid feeding for the young piglets. In: M. A. Varley, J. R. Wiseman (eds), *The Weaner Pig: Nutrition and Management*. CAB International, Wallingford, Oxon. p. 153.
 13. Borin, 2006. Importancia de los alimentos en la estabilidad de la flora microbiana para la salud del ave. AMEVEA-PERÚ. *Nutrición Animal*. Consultado el día sábado 21 de marzo de 2009. http://www.ameveaperu.org/documentos/palestra_drhomero.pdf.
 14. Brea O. 2015. Obtención de un alimento energético-proteico a partir de la fermentación en estado sólido de la harina de frutos del árbol del pan y su empleo dietas para conejos y cerdos (*Artocarpus altilis*). Tesis presentada en opción al título de Doctor en Ciecias. Instituto de Ciencia Animal.
 15. Brea, O.; Elías, A.; Ortiz, A.; Herrera, F. y Motta, W. Utilización de la harina de frutos del árbol del pan (*Artocarpus altilis*) fermentada en estado sólido, en dietas destinadas a cerdos en preceba. *Rev. Cubana de Cien. Agríc.* 2014; 48(4): 391-398.
 16. Breul S. 1998. Les probiotiques en alimentation animale. *Med. Chir. Dig.*,27: 89-91
 17. Brizuela, María Antonia. (2003). Selección de cepas de bacterias ácido lácticas para la obtención de un preparado con propiedades probióticas y su evaluación en cerdos. Tesis presentada en opción al grado científico de Doctor en Ciencias Veterinaria ICDCA.
 18. Campabadal, C.M. & Navarro, H. (1994). Manejo y alimentación del lechón pre y posdestete. *Asociación Americana de Soya.* 92:21.
 19. Carro, María Dolores & Ramilla, María José, (2005). Los Aditivos Antibióticos Promotores de crecimiento de los animales: Situación Actual y Posibles Alternativas.
 20. Castellanos, A.F. & Murguía, M.O. 1999. Evaluación de un probiótico para el control de *Salmonella* en pollos de engorde en Yucatán. *Vet. Méx.*30:243.

21. Castro, M. & Rodríguez, F. (2005). Levaduras: probióticos y prebióticos que mejoran la producción animal. *Revista Corpoica*. 6: 26-38.
22. Casula G y Cutting S. M. 2002. *Bacillus* probiotics: spore germination in the gastrointestinal tract. *Applied Environ. Microbiol* May 68(5): 2344-2350
23. Choct, M. 2001. Alternatives to in-feed antibiotics in monogastric animal industry. *ASA Technical Bulletin*. AN 30.
24. Close WE. 2000. Producing pigs without antibiotic growth promoters. *Advances in pork production*. (11): 47-56.
25. Collins, M.D. & Gibson, G.R. 1999. Probiotics, prebiotics, and synbiotics: approaches for modulating the microbial ecology of the gut. *Am. J. Clin. Nutr.* 69:1052.
26. Cortés, L. & Gómez, F. (2011). Efficiency of microorganisms (EM) in the functional improvement of the digestive system of pigs in post-weaning phase. *Revista Spei Domus*. 25: 31-34.
27. Coventry, M., Gordon, J., Wilcock, A., Harmark, K., Davidson, B., Hickey, M., Hiller, A. & Wan, J. 1997. Detection of bacteriocins of lactic acid bacteria isolated from foods and comparison with pediocin and nisin. *J. Appl. Microbiol.* 83:248.
28. Cuellar, P. 1997. Informes técnicos hacienda Arizona, Reserva Pozo Verde, Jamundi, Valle, datos sin publicar.
29. Czerucka, D., Piche, T. & Rampal, P. (2006). Yeast as probiotics – *Saccharomyces boulardii*. *Aliment Pharmacol Ther.* 26: 767–778.
30. Cummings, J., H. Macfarlane, G.T. y Enghyst, H. N. 2001. Prebiotic digestion and fermentation. *Am. J. Clin Nutr.* 73: 573.
31. De Vuyst, L. 1998. Growth kinetics and production of probiotic lactic acid bacteria strains: limitations and breakthroughs. *Med. Fac. Landbouww. Univ. Gent*. 63/4b:1511.
32. Díaz, B. (2014). Evaluación de residuos agrícolas post cosecha en ensilajes inoculados con preparados microbianos nativos para alimentación de vacas lecheras en Ecuador. Tesis presentada para la opción de Doctor en Ciencias Veterinarias. Mayabeque, Cuba. 112. P.

33. Duncan, D. B. 1955. Multiple ranges and multiple F test. *Biometrics*, 11: 1.
34. Elías, A. & Herrera, F. R. 2008. Producción de alimentos para animales a través de procesos biotecnológicos sencillos, con el empleo de Microorganismos Beneficiosos Activados (MEBA) Vitafert. Instituto de Ciencia Animal. La Habana, Cuba.
35. FAO/WHO (Food and Agriculture Organization of the United Nations/World Health Organization). (2001). Health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria. Report of a joint FAO/WHO expert consultation on evaluation of health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria in food. October 1-4. Cordoba, Argentina. Disponible en: <http://www.who.int/foodsafety/publications/fs_management/en/probiotics.pdf>. Consultado, abril 2015.
36. FAO/WHO (Food and Agriculture Organization of the United Nations/World Health Organization). (2002). Guidelines for the evaluation of probiotics in food. Report of a joint FAO/WHO working group on drafting guidelines for the evaluation of probiotics in food. April 30 and May 1. London Ontario, Canadá.
37. FAO/WHO (Food and Agriculture Organization of the United Nations/World Health Organization). (2014). Health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria. Report of a joint FAO/WHO expert consultation on evaluation of health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria in food. October 1-4. Cordoba, Argentina. Disponible en: <http://www.who.int/foodsafety/publications/fs_management/en/probiotics.pdf>. Consultado, abril 2015.
38. Faulkner, D. 2003. The role of natural alternatives in the future of the animal feed industry. <<http://www.vet.chula.ac.th/~nuclear/symposium44/David.htm>> [Fecha de consulta: 23 de enero de 2003].
39. Ferket, P.R., Parks, C.W. & Grimes, J.L. 2002. Benefits of dietary antibiotic and mannanoli-gosaccharide supplementation for poultry. Multi-State Poultry Meeting. Marriott Hotel, Indianapolis, Indiana, USA.

40. Figueredo, J y Pedroso, Miriam. 1993. Evimunk (β ,1,3, glucano): Influencia sobre los valores hemáticos y actividad celular en médula ósea de ratones Balbc. *Revista Salud Animal*.15:13-20.
41. Fuller, R. 1992. Problems and prospects. En *Probiotics: The scientific basis*. Ed. R. Fuller Chapman & Hall. London, UK. p. 377.
42. García D.E. 2004. Principales factores antinutricionales de las leguminosas forrajeras y sus formas de cuantificación. *Pastos y Forrajes*, 27:101-116.
43. García, Y. 2010. Obtención de fructanos a partir del *Agave fourcroydes*, caracterización estructural y evaluación biológica como prebiótico. Tesis en opción al grado de Doctor en Ciencias Veterinarias. Instituto de Ciencia Animal. La Habana, Cuba. 131 p.
44. García, Y. 2009. Caracterización física y microbiológica del bioproducto Vitafer y sus potencialidades como probiótico. Tesis presentada en opción al título de Doctor en Ciencias
45. Goldin, B.R. 1998. Health benefits of probiotics. *Br. J. Nutr.* 80:203S.
46. Griggs, J. P. & Jacob, J. P. (2005). *Alternatives to Production*.
47. GRUPOR 2010. Boletín anual de indicadores productivos en la producción porcina en Cuba. MINAG. 32 pp.
48. Gunther, K. 1995. The role of Probiotics as feed additives in animal nutrition. Department of Animal Physiology and Animal Nutrition. Gottingen, Germany.
49. Gutiérrez, B. 2011. Levadura torula cubana desarrollada sobre vinaza de destilerías para la alimentación de aves. Tesis presentada en opción al grado científico de Doctor en Ciencias Veterinarias. Biblioteca ICA, Mayabeque 2011.
50. Gutiérrez, O., Castro, M. & Boucourt, R. 2002. Nuevos enfoques sobre el uso de aditivos en la alimentación animal. XVIII Congreso Panamericano de Ciencias Veterinarias (PANVET). Palacio de las Convenciones. Ciudad de la Habana, Cuba.
51. Havenaar, R. y Huis in't Veld, J. H. (1992). Intervention strategies: the use of probiotics and competitive exclusion microbiotas against contamination with

- pathogens in pigs and poultry. En: Probiotics: 2. Application and Practical Aspects, R. Fuller Ed. Londres, Chapman & Hall, Pp. 187-207.
52. Hentges, D. (1992). Bacterial interactions in the gut. En: Probiotics: The Scientific Basis. Fuller R. (ed.). Chapman & Hall, London, UK. p. 87.
 53. Jonsson, E. & Conway, P. (1992). Probiotics for pigs. In Probiotics: The Scientific Basis. Fuller R. (ed.). Chapman & Hall, London, UK. p. 260-261.
 54. Kim, E., Hong, H., Hong, N., Choi, K., Hann, Y., Kangwan, N., Chao, Y. & Hahn, K.(2012). Concentrated Probiotics Improve Inflammatory Bowel Diseases Better than Commercial Concentration of Probiotics. *Journal of Food and Drug Analysis*. 20: 292-295.
 55. Krishna, C. Critical y Solid-State. 2005. Fermentation Systems-An Overview *Reviews in Biotechnology; ProQuest Agriculture Journals*. 2005.
 56. Lalles, J., Boudry, G., Favier, C., Le Floch, N., Lurona, I., Montagne, L., Oswald, I. P., Pie, S., Piel, C. & Seve, B. (2004). Gut function and dysfunction in young pigs: physiology. *Animal Research* 53: 301-316.
 57. Lázaro C. 2005. Efecto de probióticos en el alimento de marranas sobre los parámetros productivos de lechones. *Rev. investig. vet. Perú*, 16(2), pp.97-102.
 58. Lilly, D., Stillwell, R. (1965). Probiotics growth promoting factors produced by microorganisms. *Science*. 147: 747-748.
 59. Llevats, E. 2004. Las levaduras. Disponible en: <http://www.cuinant.com/elllevat1.htm>
 60. Lori Kopp-Hoolihan Ph D. RD. 2001. Prophylactic and Therapeutic Uses of Probiotics. *Journal of the American Dietetic Association*. Volume 101, Issue 2, February 2001, Pages 229-241.
 61. Marca, J. 1999. Condicionantes físicos, químicos y biológicos de la respuesta inmune: inmunomoduladores, adyuvantes, adaptógenos. Seminario: Inmunoprofilaxis en producción animal. Calier. Nutreco, Madrid.
 62. Martínez, M. (2004). Efecto de un hidrolizado enzimático de crema de destilería tratado térmico en indicadores del metabolismo lipídico en

- reemplazo de ponedoras. Tesis de Maestría en Bioquímica. Universidad de la Habana. Facultad de Biología. p. 63
63. Metchnikoff, E. 1907. The prolongation of life. Optimistic studies, William Heinemann, London, UK.
 64. Mitchell, R.K., Busenitz, L., Lant, T., McDougall, P.P., Morse, E. A., & Smith, B. (2002). Toward a theory of entrepreneurial cognition: Rethinking.
 65. Moreno, E. 2010. Probióticos en aves <http://www.timbrado.com/aet/probioticos.shtm>.
 66. Morgan, F. 2003. La pulpa de café enriquecida. Un aporte al desarrollo sostenible en la zona montañosa de Guantánamo. Tesis presentada en opción al Grado Científico de Doctor en Ciencias Veterinarias. Instituto de Ciencia Animal, 97p.
 67. Moslehi-Jenabian, S., Lindegaard, L. & Jespersen, L. (2010). Review: beneficial effects of probiotic and food borne yeasts on human health. *Nutrients* 2: 449-473.
 68. Nomoto, K. (2000). Immunoregulatory functions of Probiotics. *Bioscience and Microflora*. 19:1-8.
 69. Noriega, L., Gueimonde, M., Sánchez, B., Margolles, A. & de los Reyes, C. (2004). Effect of the adaptation to high bile salts concentrations on glycoside activity, survival to low pH and cross-resistance to bile salts in *Bifidobacterium*. *International Journal Food Microbiol.* 94: 79-86.
 70. Ortiz, A.; Gómez, S.; Jay, O.; Brea, O. 2017. Inclusión del yogurt artesanal de leche de búfala en el pienso de gallinas ponedoras Isa Brown y su efecto en la producción y calidad del huevo *Revista Ciencia y Agricultura (Rev. Cien. Agri.)* Vol. 14 (1).
 71. Ouwehand, A.C., Kirjavainen, P.V., Short, C. & Salminen, S. 1999. Probiotics: mechanism and established effects. *Int. Dairy J.* 9:43.
 72. Pandey, A.; Soccol C.R.; Rodríguez-León, J.A. y Nigam, P. Solid-state. 2001. *Fermentation in biotechnology. Fundamentals and applications.* Asia Tech Publishers. 2001.

73. Parker, D.S. (1990). Manipulation of the functional activity of gut by dietary and other means (antibiotics/probiotics). *Journal of Nutrition* 120,639-648.
74. Pedroso, M., Proenza, T., Zaldivar, V. & Alvarez, V. 1996. Empleo del Evimunk (β 1,3 glucano) en aves. Resultados preliminares. *Rev.Salud Animal* 18:159.
75. Pérez, M. (2000). Obtención de un hidrolizado de crema de levadura de destilería y evaluación de su actividad probiótica. Tesis presentada en opción al grado científico de Doctor en Ciencias Veterinarias. Universidad Agraria de la Habana. Cuba p. 4 - 25.
76. Pérez. G. (2005). Una nueva herramienta profiláctica: "La exclusión competitiva en avicultura" *Venezuela Avícola* 33:11.
77. Piad, R. 2001. Evaluación de la actividad probiótica de un hidrolizado enzimático de crema de destilería en pollitas de reemplazo de ponedoras. Tesis presentada en opción al grado científico de Doctor en Ciencias Veterinarias. Universidad Agraria de la Habana. Cuba. p.10-17.
78. Pinos, A. 2007. Breve reseña de los probióticos. Universidad Agraria de la Habana. Instituto de Ciencia Animal. La Habana. Consultado el 31-01-2010. <http://www.monografias.com/trabajos55/efecto-de-probioticos/efecto-deprobioticos2.shtml>
79. Pluske, J., Hopwood, D. & Hampson, D. (2003). Relación entre la microbiota intestinal, el pienso, la incidencia de diarreas y su influencia sobre la salud del lechón tras el destete. En memorias: XIX Curso de Especialización FEDNA. 23-24 de octubre .Madrid, España. p. 96.
80. Pollmann S. 1992. Probiotics inswine diets. In: D.A Leger and S.KHo (ed). *Proceedings of theInternational Round Table on AnimalFeed Technology.* AgricultureCanada, Ottawa. 65-74p.
81. PROMOSTA (Proyecto de Modernización de los Servicios de Transferencia de Tecnología Agrícola). Cultivo de la calabaza (Cucúrbita pepo) p 7-11.
82. Prats, A. 1999. Establecimiento de un protocolo experimental para determinar la adherencia in vitro de lactobacilos a las células intestinales del cerdo. Tesis

- MCs. Radioquímicas. Instituto Superior de Ciencias y Tecnologías Nucleares. Ciudad de La Habana, Cuba.
83. Prats, A. 2002. Establecimiento de un protocolo experimental para determinar la adherencia in vitro de lactobacilos a las células intestinales del cerdo. Tesis MCs. Radioquímicas. Instituto Superior de Ciencias y Tecnologías Nucleares. Ciudad de La Habana, Cuba.
 84. Ramírez M. Epidemiología de la triquinelosis. *Ciencias veterinarias* 2003 3: 278-297.
 85. Ramos, J. A.; Aranda I., E. M. y Elías, A. Patrones de fermentación ruminal y digestibilidad in situ en bovinos alimentados con forraje y suplementos a base de caña de azúcar fermentada en estado sólido. *Producción animal tropical en II Congreso Internacional de Producción Animal, La Habana, Cuba.* 2007.
 86. Ramos, J.A., Elías, A. y Herrera, F. 2006. Processes for production of energy-protein feed for animals. Effect of four energy sources on solid state fermentation of sugarcane. *Cuban Journal of Agricultural Science.* 40 (1). 47-53.
 87. Reis de Souza, T. C.; Guerrero, C. M.; Aguilera, B. A.; y Mariscal, L. G. 2005. Efecto de diferentes cereales sobre la morfología intestinal de lechones recién destetados. *Téc.Pecu.Mex.* 43:309 – 321.
 88. Requena, T. & Peláez, C. 1995. Revisión: Actividad antimicrobiana de bacterias lácticas. Producción de bacteriocinas. *Rev. Española de Ciencia y Tecnología de Alimentos.* 35:19.
 89. Rico, C.; Santana, I.; García, G. y Ly, J. 2000. El cerdo Criollo cubano. In: V Congreso iberoamericano de razas autóctonas y criollas. La Habana, p 244.
 90. Rodríguez, B. 2011. Levadura torula desarrollada sobre vinaza de destilerías para la alimentación de aves. Tesis presentada en opción al Título de doctor en Ciencias. ICA Hbana, Cuba.
 91. Rodríguez, B.Y. 2005. Obtención de un alimento energético proteico a través de la FES de la caña de azúcar y el tubérculo de yuca. Tesis de Maestría en Ciencias Veterinarias. Universidad Agraria de la Habana. Instituto de Ciencia Animal. Cuba Rodríguez, M.C., Becerra, B.

92. Rodríguez, H.C., Barreto, G., Bertot, A. & Vázquez, O. (2013). Los microorganismos eficientes como promotores del crecimiento en los cerdos hasta el destete. REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria. 14: 1-7.
93. Rolfe, D.R. 2000. The role of probiotic cultures in the control of gastrointestinal health. J. Nutr.130:396.
94. Rondón, A., Ojito, Y., Arteaga, F., Laurencio, M., Milián, G. & Pérez, Y. (2013). Efecto probiótico de *Lactobacillus salivarius* C65 en indicadores productivos y de salud de cerdos lactantes. Revista Cubana de Ciencia Agrícola. 47: 401-407.
95. Roppa, L. 2006. Producción global de carne porcina: enfrentando los desafíos en un mundo en transición. Vº Congreso de Producción Porcina del Mercosur, Río Cuarto.
96. Ruiz, J. & Jiménez, R. (1995). Availability of essential B-group vitamins to *L. plantarum* in green olive fermentation brines. Applied Environmental Microbiology. 61: 1294-1297.
97. Salminen, S., Deighton, M.A., Benno, Y. y Gorbach, S.L. (1998). Lactic acid bacteria in health and disease. En: *Lactic Acid Bacteria: Microbiology and Functional Aspects*, S. Salminen y A. Von Wright Eds. Nueva York, Marcel Dekker Inc., pp. 211.
98. Sanz, Y., Collado, M.C. & Dalmau, J. (2003). Probióticos: criterios de calidad y orientaciones para el consumo. Acta Pediátrica Española. 61: 476-482.
99. Savage, D. 1980. Adherence of normal flora to mucosal surfaces. En *Bacterial Adherence*. Eds. Chapman & Hall. London, UK. p. 33.
100. Schrezenmeir, J. & De Vrese, M. 2001. Probiotics, prebiotics and synbiotics-approaching a definition. *Animal J. Clin. Nutr.* 73:361S.
101. Segura, Alba y De Bloss, Mildred. 2000. La alternativa a los promotores del crecimiento. III Congreso Nacional de Avicultura. Memorias. Centro de Convenciones Plaza América. Varadero, Cuba. p. 37-44.
102. Seifert, H.S. & Gessler, F. (1996). Oral long-term administration of probiotic *B.cereus* an alternative to the prevention of enterotoxaemia. *Dtsch Tierarztl. Wochenschr.* 103: 386-389.

103. Smolander, M., Hanna-Leena, A., Ritvanen, T., Jukka, V. & Raija, A. 2004. Monitoring of the quality of modified atmosphere packaged broiler chicken cuts stored in different temperature conditions. A. Time temperature indicators as quality-indicating tools. *Food Control*. 15:217
104. Taranto, M.P., Medici, M., Perdigon, G., Ruiz, A.P. & Valdez, G.F. 2000. Effect of *Lactobacillus reuteri* on the prevention of hypocholesterolemia in mice. *J. Dairy Sci.* 83:401.
105. Tobey, J. (1992). A current perspective: the utilization of microbial fermentation products in feed and forage. Proceedings of the International Roundtable on Animal Feed Biotechnology-Research and Scientific Regulation. Edit. Leger, D.A. & Ho, S.K. Agriculture Canada, Ottawa. p. 1148-1149.
106. Valiño, E.; Elías, A.; Álvarez, E.; Quintana, M. y Montes de Oca, N. Composición de especies de bacterias aisladas del proceso de obtención de la Saccharina. II. Bacterias gram positivas. *Rev. Cubana Cienc. Agríc.* 1994b; 28 (1): 75-80.
107. Velázquez, F.; Barba, C.; Pérez, P. E. y Delgado, J. V. 1998. El cerdo negro Criollo cubano: origen, evolución y situación actual. *Archivos de Zootecnia*, 47:561-564.
108. Williams, I. (2003). Growth of the weaned pig. In: J. R. Pluske, J. V. Le Dividich, M. W. A. Verstegen (eds), *Weaning the Pig: Concepts and Consequences*, Wageningen Academic Publishers, Wageningen, Netherlands. p. 25-27.
109. Yegani, M. 2010. Manipulación de La Flora Intestinal en Aves. Universidad de Alberta Canadá. Consultado el 02-03-2011.
110. Yoo, I., Chang, H., Lee, E., Chang, Y. & Moon, S. (1997). Effect of B vitamin supplementation on lactic acid production by *L. casei*. *Journal Fermentation Bioengineering*. 84: 172-175.