



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI

DIRECCIÓN DE POSGRADO

MAESTRÍA EN CIENCIAS VETERINARIAS

PROYECTO DE DESARROLLO

Título: Efecto de microorganismos probióticos sobre la acidosis ruminal en vacas lecheras

Trabajo de titulación previo a la obtención del título de magister en Ciencias Veterinarias.

Autor:

Loja Pacho Jaime Santiago

Tutor:

Miranda Yuquilema José Efraín PhD

LATACUNGA – ECUADOR – 2023


APROBACIÓN DEL TUTOR

En mi calidad de Tutor del Trabajo de Titulación: Efecto de microorganismos probióticos sobre la acidosis ruminal en vacas lecheras, presentado por Loja Pacho Jaime Santiago, para optar por el título magíster en Ciencias Veterinarias

CERTIFICO

Que dicho trabajo de investigación ha sido revisado en todas sus partes y se considera que reúne los requisitos y méritos suficientes para ser sometido a la presentación para la valoración por parte del Tribunal de Lectores que se designe y su exposición y defensa pública.

Latacunga, julio, 31, 2023


.....
José Efraín Miranda Yuquilema PhD
CC.: 0603695875

APROBACIÓN DEL TRIBUNAL

El trabajo de Titulación: Efecto de microorganismos probióticos sobre la acidosis ruminal en vacas lecheras, ha sido revisado, aprobado y autorizada su impresión y empastado, previo a la obtención del título de Magíster en Ciencias Veterinarias; el presente trabajo reúne los requisitos de fondo y forma para que el estudiante pueda presentarse a la exposición y defensa

Latacunga, julio, 31, 2023



.....
Mg. Lucía Monserrath Silva Déley
0602933673
Presidente del tribunal



.....
MSc. Luis Alonso Chicaiza Sánchez
0501308316
Lector 2



.....
MSc. Xavier Cristóbal Quishpe Mendoza
0501880132
Lector 3

DEDICATORIA

El presente trabajo lo dedico con mucho amor a mi esposa Lorena, a mis hijos Andrés y Emilia, a mi madre Mariana, a mi hermana Teresa del Carmen y mis abuelos que en paz descansen Federico y Teresa por sus enseñanzas y apoyo incondicional.

Jaime

AGRADECIMIENTO

Agradezco en primer lugar a Dios nuestro creador por la salud, la vida y la sabiduría que me ha dado para poder cumplir este objetivo. A mi familia por su paciencia y palabras oportunas de motivación que me ayudaron a continuar con esta meta.

A la Universidad Técnica de Cotopaxi y por su intermedio al personal docente del programa de Maestría en Ciencias Veterinarias, en especial a mi tutor el Dr. José Miranda PhD por todo el apoyo brindado para el desarrollo normal de este trabajo.

A la Universidad de Cuenca por facilitar los espacios y equipos necesarios, al Dr. Gonzalo Castro MSc y al Dr. Pedro Barbecho MSc. por brindar sus conocimientos, experiencias profesionales y apoyo incondicional para el desarrollo de este trabajo.

A Bryan Largo un colega y amigo incondicional con quien he podido compartir muchos conocimientos técnicos, momentos amenos durante la vida profesional y su apoyo oportuno en especial en el desarrollo de este trabajo.

Jaime

RESPONSABILIDAD DE AUTORIA

Quien suscribe, declara que asume la autoría de los contenidos y los resultados obtenidos en el presente Trabajo de Titulación.

Latacunga, julio, 31, 2023



Jaime Santiago Loja Pacho Mvz.

CC: 010662488-5

RENUNCIA DE DERECHOS

Quien suscribe, cede los derechos de autoría intelectual total y/o parcial del presente trabajo de titulación a la Universidad Técnica de Cotopaxi.

Latacunga, julio, 31, 2023



Jaime Santiago Loja Pacho Mvz.

CC: 010662488-5

AVAL DEL PRESIDENTE

Quien suscribe, declara que el presente Trabajo de Titulación: Efecto de microorganismos probióticos sobre la acidosis ruminal en vacas lecheras, contiene las correcciones a las observaciones realizadas por los miembros del tribunal en la pre-defensa.

Latacunga, julio, 31, 2023



.....
Mg. Lucía Monserrath Silva Déley

CI: 0602933673

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI

DIRECCIÓN DE POSGRADO

MAESTRÍA EN CIENCIAS VETERINARIAS

Título: Efecto de microorganismos probióticos sobre la acidosis ruminal en vacas lecheras.

Autor: Loja Pacho Jaime Santiago.

Tutor: Miranda Yuquilema José Efraín, PhD.

RESUMEN

La presente investigación tiene como objetivo evaluar el efecto de la inclusión de los microorganismos probióticos sobre la acidosis ruminal en vacas productoras de leche del cantón Cuenca. En el estudio se emplearon un total 42 vacas de la raza Holstein Friesian, distribuidos en tres tratamientos, Tra1: *Lactobacillus acidophilus* más *Lactobacillus bulgaricus*, Tra2: *Saccharomyces cerevisiae* más *Kluyveromyces fragilis* y Tra3: Tratamiento control. Mediante un diseño completamente aleatorizado se evaluaron las variables: la dosis apropiada, características físicas del líquido ruminal, actividad microbiana, hemograma, proteínas totales, colesterol total, AST, condición corporal, ganancia de peso y calidad de la leche. La dosis de 50 ml presentó mejores resultados sin cuadros de toxicidad y mejores índices de ganancia de peso. Las características del líquido ruminal fueron significativas ($p < 0.05$) al día 60 y 75, para Tra1 y Tra2, con color verde olivo, olor aromático no repulsivo y presencia de flotación, frente al Tra3 con color verde lechoso, olor ácido picante y ausencia de flotación; el valor del pH fue más bajo para Tra3 con 0,6 puntos de diferencia frente Tra1 y Tra2, la prueba de reductasa en los días 60 y 75 presentó con mayor tiempo para Tra3, relacionándose con cuadros de acidosis ruminal. La frecuencia respiratoria, frecuencia cardíaca y temperatura, en los días 30 y 75 presentaron valores más altos para Tra3, los valores hematológicos y bioquímicos se mantuvieron en los rangos establecidos. La condición corporal y ganancia de peso presentó significancia ($p < 0.05$) con mejores valores para Tra1 y frente a Tra3, para la talla no hubo diferencia significativa durante el estudio. La grasa de la leche al día 75, incremento en 0,3 puntos en el Tra2 frente al Tra3, la proteína incremento en 0,2 puntos en Tra2 frente al Tra1 y el pH de la leche no presentaron diferencias significativas ($p < 0.05$) entre tratamientos. Se concluye que la inclusión de probióticos en la alimentación de rumiantes mejora la salud de los animales y por ende los parámetros productivos.

Palabras clave: salud ruminal, parámetros productivos, hemoquímicos, leche bovina.

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI

DIRECCIÓN DE POSGRADO

MAESTRÍA EN CIENCIAS VETERINARIAS

Title: Effect of probiotic microorganisms on ruminal acidosis in dairy cows.

Author: Loja Pacho Jaime Santiago.

Tutor: Miranda Yuquilema José Efraín PhD.

ABSTRACT

This research aims to evaluate the effect of including probiotic microorganisms on ruminal acidosis in dairy cows. A total of 42 Holstein Friesian cows were used in the study, divided into three treatments, Tx1: *Lactobacillus acidophilus* plus *Lactobacillus bulgaricus*, Tx2: *Saccharomyces cerevisiae* plus *Kluyveromyces fragilis* and Tx3: Control treatment. The following variables were evaluated using a completely randomized design: appropriate dose, physical characteristics of the ruminal fluid, microbial activity, blood count, total protein, total cholesterol, AST, body condition, weight gain, and milk quality. The dose of 50 ml presented better results without toxicity and better rates of weight gain. The characteristics of the rumen liquid were significant ($p < 0.05$) at days 60 and 75, for Tx1 and Tx2, with olive green color, aromatic non-repulsive odor, and presence of flotation, versus Tx3 with milky green color, pungent acid odor and absence of flotation; the pH value was lower for Tx3 with 0.6 points of difference versus Tx1 and Tx2, the reductase test at days 60 and 75 presented with greater time for Tx3, relating to pictures of ruminal acidosis. Respiratory rate, heart rate, and temperature on days 30 and 75 showed higher values for Tx3, while hematological and biochemical values remained within the established ranges. Body condition and weight gain showed significance ($p < 0.05$) with better values for Tx1 and Tx3, for length, there was no significant difference during the study. Milk fat at day 75 increased by 0.3 points in Tx2 vs. Tx3, protein increased by 0.2 points in Tx2 vs. Tx1 and milk pH showed no significant differences ($p < 0.05$) between treatments. It is concluded that including probiotics in the feeding of ruminants improves the health of the animals and thus the production parameters.

Keywords: ruminal health, production parameters, hemo-chemicals, bovine milk.

Marco Efraín Veloz Toapanta con cédula de identidad número 1804490082
Licenciado/a en: CIENCIAS DE LA EDUCACION MENCION INGLES con
número de registro de la SENESCYT 1010-15-1400777; **CERTIFICO** haber
revisado y aprobado la traducción al idioma inglés del resumen del trabajo de
investigación con el título: Efecto de microorganismos probióticos sobre la acidosis
ruminal en vacas lecheras de: Jaime Santiago Loja Pacho, aspirante a Magíster en
Ciencias Veterinarias.

Latacunga, julio, 31, 2023



Marco Efraín Veloz Toapanta
CC 1804490082

ÍNDICE DE CONTENIDOS

Justificación.....	1
Planteamiento del problema.....	5
Hipótesis de la investigación.....	7
OBJETIVOS:	8
General.....	8
Específicos.....	8
CAPÍTULO I. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA	9
1.1. Generalidades de los rumiantes.....	9
1.2. Ambiente ruminal.....	9
1.3. ¿Qué es la acidosis ruminal?	10
1.4. Probióticos.....	11
1.5. Lactobacillus.....	12
1.6. Mecanismo de acción de los lactobacillus en el organismo.....	12
1.7. Levaduras.....	14
1.8. Mecanismo de acción de las levaduras en el organismo.....	14
CAPÍTULO II. MATERIALES Y MÉTODOS	18
2.1 Área de estudio:.....	18
2.2 Dieta basal utilizada:	18
2.3 Obtención de los probióticos empleados en el estudio.....	18
2.4 Tamaño de la muestra empleada y evaluación de la dosis de probiótico.....	19
2.5 Evaluación de los indicadores de salud.....	21
2.6 Indicadores zootécnicos y productivos.....	24
2.7 Análisis estadístico.....	24
CAPÍTULO III. RESULTADOS.....	25
CAPÍTULO IV. DISCUSIÓN.....	38
CONCLUSIONES.....	42
RECOMENDACIONES.....	43

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Evaluación de la dosis apropiada para vacas productoras de leche.	20
Tabla 2. Tratamientos empleados en el estudio.	21
Tabla 3. Examen físico del Líquido ruminal.	22
Tabla 4. Determinación de dosis de probiótico estudiado.	25
Tabla 5. Indicadores de las características del color de líquido ruminal de las vacas en la etapa postparto, manejados bajo tres tratamientos.	26
Tabla 6. Indicadores de las características del olor de líquido ruminal de las vacas en la etapa postparto, manejados bajo tres tratamientos.	27
Tabla 7. Indicadores de las características con respecto a la flotación del líquido ruminal de las vacas en la etapa postparto, manejados bajo tres tratamientos.	28
Tabla 8. Valores del análisis de pH y TRAM del líquido ruminal de las vacas en la etapa postparto, manejados bajo tres tratamientos.	29
Tabla 9. Valores de frecuencia respiratoria, frecuencia cardiaca y temperatura, de las vacas en la etapa postparto, manejados bajo tres tratamientos	30
Tabla 10. Parámetros hematológicos y bioquímicos de las vacas en la etapa postparto, manejados bajo tres tratamientos.	32
Tabla 11. Valores de la ganancia de peso y parámetros zootécnicos de las vacas en la etapa postparto, manejados bajo tres tratamientos.	35
Tabla 12. Índices de la calidad de leche de las vacas en la etapa postparto, manejados bajo tres tratamientos.	36

INDICE DE IMÁGENES

Ilustración 1. pH metro portátil.	44
Ilustración 2. Técnica de valoración de condición corporal.	44
Ilustración 3. Analizador de leche, MILKOTESTER- Master Eco.....	44
Ilustración 4. Cinta bovino métrica para pesaje de animales.	44
Ilustración 5. PH-Metro BOECO–BT – 675	44
Ilustración 6. Analizador Automático de Hematología ZYBIO Z5	44
Ilustración 7. Analizador bioquímico, FUJI DRI-CHEM ANALYZER.....	44
Ilustración 8. Administración de probiótico al día del parto.	44
Ilustración 9. Obtención de líquido ruminal por la técnica de ruminocentesis dorsomedial	44
Ilustración 10 Análisis de pH del líquido ruminal.....	44
Ilustración 11. Obtención de muestras de sangre	44
Ilustración 12. Análisis de metabolitos bioquímicos y hematológicos.	44

INTRODUCCIÓN

Justificación.

El crecimiento de la población humana ha generado un incremento en la demanda de alimentos de origen animal, exigiendo a los sistemas de producción animal a ser más eficientes (1). Para incrementar los niveles de producción los animales son alimentados con dietas ricas en contenido de carbohidratos no fermentables (CNF), dando como consecuencia efectos negativos en la salud, productividad y rentabilidad, el mal manejo de las dietas puede traer consigo enfermedades de origen metabólico, que son la causa de pérdidas millonarias en la industria ganadera a nivel mundial (2)).

Con la intensificación de los sistemas de producción, se presentan enfermedades propias del caso para lo cual se ha venido utilizando de forma tradicional una gran cantidad de aditivos químicos que permiten prevenir y controlar estas patologías (3); sin embargo, el uso prolongado e indiscriminado de estas drogas ha motivado a la Unión Europea a prohibir el uso de antibióticos como promotores de crecimiento (APC) (4) ya que se ha demostrado la presencia de residuos químicos en los alimentos de origen animal, así como la resistencia microbiana a los antibióticos en los animales y consumidores(3).

Esta disposición ha ocasionado en los productores y nutricionistas la búsqueda de nuevas alternativas que permitan mantener los índices de producción y a la vez la sostenibilidad del sistema productivo (1). En la búsqueda de mecanismos que permitan mantener los índices productivos, se han probado múltiples estrategias de manejo y alimentación como también, se desarrollaron varios estudios para entender la fisiología del tracto gastrointestinal obteniendo resultados de gran importancia sobre el microbioma gastrointestinal y su posibilidad de manipularlo en beneficio ambiental y productivo (5)(6)

Ante esta necesidad, entran en juego los aditivos microbianos naturales, conocidos como probióticos, que no son más que microorganismos específicamente seleccionados que al ser administrados al animal ejercen beneficios para la salud de

este y por ende a la producción (1). Los probióticos se encuentran en una amplia variedad de presentaciones que se utilizan en entornos terapéuticos, aquí se enumeran algunas cepas representativas: *Lactobacillus* spp., *Bifidobacterium* spp., *Bacillus* spp., *Saccharomyces* spp., *Streptococcus* spp. entre otras (7) (8). Que, pueden interactuar en diferentes ecosistemas del huésped sea tracto gastrointestinal, canal vaginal o glándula mamaria (9).

Los probióticos tienen las siguientes características: no son tóxicos, no requieren periodo de retiro, son estables en el tracto gastrointestinal, no cambian la palatabilidad de los alimentos, no alteran la flora intestinal de manera negativa, poseen un efecto inhibitor en algunas bacterias, mejoran el índice de conversión, entre otros (11). Además, que los probióticos se los debe incluir en una dosis capaz de modificar por colonización la microbiota del hospedador, y se los puede suplementar en el agua o pienso de la dieta, siendo: bacterias, levaduras y hongos (13).

Los microorganismos de interés zootécnico que son los más aplicadas en la alimentación de los rumiantes son las bacterias ácido lácticas como *Lactobacillus* spp, y levaduras como la *Saccharomyces* spp y se quiere lograr es una modificación de la microbiota original, evitando la proliferación de microorganismos patógenos y también la acumulación de lactato en el rumen, ya que los microorganismos ácido lácticos utilizan el lactato como materia prima para la síntesis de propionato a nivel del rumen (14).

Los probióticos actúan contra los patógenos en base a cuatro mecanismos bien definidos: competencia por los receptores que permiten adhesión y colonización de la mucosa intestinal, competencia por determinados nutrientes, producción de sustancias antimicrobianas y estimulación de la inmunidad sistémica y de la mucosa del hospedador. Los probióticos ayudan a optimizar la producción animal, al modificar positivamente la conversión de alimento, la calidad de los productos finales (carne o leche) y disminuyendo la emisión de gas metano al medio ambiente (6).

La explotación de rumiantes en especial de ganado bovino, representa un importante sector de la producción animal, así como una fuente significativa de ingresos económicos (10), por lo tanto se han desarrollado varias destrezas que permiten la optimización de recursos, entre ellas las estrategias de alimentación que buscan mejorar la microbiota ruminal, reducir la incidencia de enfermedades, mejorar la conversión alimenticia y obtener rendimientos productivos óptimos. Es por eso que el uso de probióticos en el sector ganadero ha cobrado gran importancia por sus beneficios (9)

La alimentación del rumiante se basa principalmente de pastos y forrajes, donde se incluyen los nutrientes necesarios para el mantenimiento de la microbiota ruminal, su multiplicación y producción de nutrientes para el huésped, con la finalidad de mantener una eubiosis con el animal, la misma que puede ser alterada cuando el alimento para los rumiantes presenta desequilibrios en las dos fracciones denominadas: carbohidratos estructurales y no estructurales, siendo de vital importancia que se mantenga un equilibrio entre ellas (11).

Los carbohidratos estructurales contenidos en la pared celular como la celulosa, hemicelulosa, lignina, taninos, y otros elementos fibrosos se digieren por fermentación en el rumen, y son aprovechados por los diferentes microorganismos; mientras que, los carbohidratos no estructurales como el almidón, azúcares, fructanos y ácidos orgánicos al ser también aprovechados por los microorganismos, sino existe una adaptación o control en la suplementación de estos, puede existir una alteración en el pH del rumen disminuyéndolo y causando cuadros de acidosis ruminal ($\text{pH} < 6$) (12).

La sanidad animal termina cuando se ha perturbado la homeostasis del organismo, considerando a la acidosis ruminal un trastorno donde se rompe la relación simbiótica del huésped con los microorganismos del rumen, teniendo en cuenta que el huésped proporciona el ambiente y los nutrientes esenciales para el crecimiento de los microorganismos, mientras que los microorganismos facilitan al animal productos de la fermentación que tienen un alto valor nutritivo como los AGV y proteína microbiana, los cuales son absorbidos por las papilas ruminales o en el intestino (13).

La fisiopatología de la acidosis empieza cuando se establece un pH inferior a 6 y se desarrolla la flora lactogénica productora de lactato, por lo que es indispensable que la dieta contenga fibra, para estimular la secreción de saliva y así mantener un equilibrio ácido base. La acidosis ruminal es la acumulación excesiva de ácidos y/o falta de bases en el fluido del rumen-retículo, como consecuencia de: producción excesiva de AGV, insuficiente absorción de los AGV a través de la pared del rumen, aporte insuficiente de sustancias tampón al rumen y una tasa de tránsito lenta (9).

Este trastorno es producto del consumo de dietas con altas cantidades de carbohidratos fermentables o no fibrosos (CNF) como los concentrados. Su aparición se explica debido a la fermentación de cantidades excesivas de CNF y la producción exagerada de AGV, en especial de lactato, donde las sustancias tampón no son capaces de mantener el pH y este cae a niveles críticos por debajo de 6 puntos (10). El cambio en el pH del rumen, conduce a un desequilibrio de la población de microorganismos llevando al animal a alteraciones patológicas con alto impacto en la producción (13).

Planteamiento del problema.

La leche de vaca corresponde al 81% de la producción de leche a nivel mundial, seguida de la leche de búfala con un 15% y el 4% corresponde a la producción de ovejas, cabras y camellas; durante el año 2019 se observó un incremento de 1,3%, mientras que, para el periodo 2020 – 2029, debido al crecimiento demográfico, económico y la búsqueda de alimentos de mayor valor nutritivo, se estima que la producción lechera incremente en 1.6% anual y el consumo per cápita de productos lácteos frescos en 1,0% anual, especialmente en China, India, Pakistán y África (14)

En América Latina la producción de leche representa el 9,7% de la producción mundial considerando la variabilidad en los niveles de producción. Así también las exportaciones de productos lácteos han incrementado considerablemente, no obstante, el crecimiento poblacional incrementa rápidamente y genera un déficit comercial con repercusiones macroeconómicas, obligando al productor a intensificar su sistema de producción para solventar la necesidad del mercado, acción que se ve respaldada por los objetivos planteados de desarrollo sostenible de la Agenda 2030 planteados por la FAO (15)

En el Ecuador la industria lechera representa el 14% del Producto Interno Bruto Agroalimentario (16), siendo Azuay la segunda provincia en mayor producción de leche a nivel nacional(17), la leche producida se destina a la venta a la industria, alimentación de animales, producción de derivados artesanales y al auto consumo según los datos del INEC 2019 (16), siendo una importante fuente de ingresos para los productores agropecuarios y fuente importante en la alimentación de las personas; sin embargo, el mayor inconveniente encontrado es la limitación de espacio donde producir (17).

La demanda de alimentos en especial de origen animal (carne y leche) es un factor importante para incrementar los niveles de producción; sin embargo, la limitante que existe con la disponibilidad de espacio para emplazar las lecherías, ha motivado a los productores a intensificar sus sistemas de producción, mejorar la genética de los

animales e incrementar dietas con alto contenido de carbohidratos no estructurales, provocando desbalances en la alimentación y predisponiendo a la presentación de acidosis ruminal durante los primeros 90 días posparto.

La fermentación microbiana en el rumen es de vital importancia para la productividad de las vacas, por lo que es indispensable mantener el equilibrio microbiano; sin embargo, el desarrollo genético en los últimos años, exige alimentar a los animales con altas cantidades de CNF para incrementar los niveles de producción de leche, ocasionando cuadros de acidosis ruminal ya que el pH baja por acción del ácido láctico y esto incurre en efectos negativos a nivel productivo con la depresión de la grasa de la leche, mastitis, laminitis y bajos índices reproductivos generando grandes pérdidas económicas (1)

Estudios recientes sugieren que la aparición de acidosis ruminal en vacas lecheras está estrechamente relacionada con el desequilibrio de la microbiota gastrointestinal debido al elevado consumo de CNF, que puede aliviarse con la suplementación de probióticos, esta acción ha atraído una gran atención por parte de los investigadores (7), (11) los cuales desarrollaron un modelo de acidosis ruminal en vacas y descubrieron que la acidosis ruminal, desequilibraba la microbiota en el fluido ruminal, heces, leche y en la ubre producía una respuesta inflamatoria (7).

La incidencia de la acidosis ruminal es marcada en animales productores de leche, debido a su larga permanencia en el hato, están propensos a cambios en su alimentación (13); por lo tanto, hay una prevalencia general entre 14% y 30% de acidosis ruminal clínica y de 20 a 40% de acidosis subclínica, donde el 19% de los casos presentados tanto de acidosis aguda como subaguda, se dan en la etapa de inicio de lactación y 26% en el pico de la lactancia (2), la gravedad del cuadro dependerá de la cantidad de alimento consumido, demostrando animales anoréxicos, deshidratación, diarrea, taquicardia, polipnea y depresión en la producción (13).

La acidosis ruminal causa un alto impacto en la economía de los establecimientos ganaderos (12), estimando una pérdida económica de 1,12 dólares por día (2). Puesto que la producción de leche disminuye entre un 10 a 25%, hay disminución de la grasa

en la leche, los problemas reproductivos relacionados a la acidosis ruminal se presentan en un 20 a 30%, incrementa los costos por los tratamientos y muchos de ellos mueren o son descartados; sin embargo, a pesar de su incidencia esta enfermedad pasa inadvertida en varios hatos lecheros (12).

Se han realizado varios experimentos para presentar alternativas en su prevención y control y los diferentes aditivos utilizados no han presentado resultados satisfactorios (2), sin embargo, en los últimos años se ha dado especial importancia al uso de probióticos en la producción animal, observando grandes beneficios en los rendimientos productivos y disminución de fármacos en el tratamiento de enfermedades (9). Razón por la cual nos planteamos la pregunta. ¿Cómo influyen los microorganismos probióticos sobre la salud y productividad en las vacas lecheras sobre la acidosis ruminal?

Hipótesis de la investigación.

Ho: Los probióticos incluidos en la dieta de las vacas productoras de leche influyen positivamente sobre la salud ruminal y producción de los animales.

Ha: Los probióticos incluidos en la dieta de las vacas productoras de leche no influyen positivamente sobre la salud ruminal y producción de los animales.

OBJETIVOS:

General.

- Evaluar el efecto de la inclusión de los microorganismos probióticos sobre la acidosis ruminal en vacas productoras de leche del cantón Cuenca.

Específicos.

- Determinar la dosis de inclusión de probióticos en el control de la acidosis ruminal.
- Valorar los indicadores de salud de las vacas productoras de leche alimentadas con probióticos.
- Estudiar los indicadores zootécnicos y productivos de vacas productoras de leche, alimentadas con probióticos.

CAPÍTULO I. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

1.1. Generalidades de los rumiantes.

El tracto gastrointestinal (TGI) de los rumiantes está formado por cuatro compartimentos: rumen, retículo, omaso y abomaso. Cada uno de ellos cumplen con funciones específicas para que se facilite la digestión de los alimentos y la absorción de los nutrientes, su anatomía permite obtener nutrimentos de todas las fracciones del alimento. Al perturbar el medio ambiente especialmente del rumen, se produce una alteración en la digestión de los compuestos inmediatos que proporcionan sustratos a los microorganismos, entonces ellos no pueden generar energía para el animal (18).

Para suplir el costo de la producción, los sistemas de producción ganadera se intensifican y al no contar con un programa nutricional adecuado para el tipo de producción; se producen trastornos de tipo metabólicos vinculados a la nutrición, como la acidosis ruminal. Esta patología se presenta cuando las dietas están exentas del contenido fibroso, y están incluidos los carbohidratos solubles en grandes cantidades por lo que, hay una rápida degradación de estos elementos con liberación de productos ácidos en el rumen (baja el $\text{pH} < 6$) (19).

Fisiológicamente la acidosis ruminal, se basa en la disminución en el álcali (bases) en relación al contenido de ácido (iones de hidrógeno). Algunos autores, manifiestan que la etiología de la acidosis se agrupa en 3 estratos: una ingesta excesiva de CNF, un aporte insuficiente de sustancias tampón en el rumen y una inadecuada adaptación a dietas altamente fermentables (19). También se manifiesta que la acidosis ruminal depende más de la cantidad total de carbohidratos fermentables que de su porcentaje en la dieta (2).

1.2. Ambiente ruminal.

Durante el día un rumiante adulto produce alrededor de 200 litros de saliva y es dependiente de factores como: porcentaje de materia seca, fibra de la dieta, tamaño de la partícula, tiempo de rumia, nivel de ingestión, osmolaridad del plasma, entre otros, por lo tanto la eubiosis ruminal se mantiene gracias a las sustancias tampón o buffer

que están contenidas en la saliva y que incluye sales minerales como el fosfato y bicarbonato, razón por la cual en este ambiente las bacterias ruminales son capaces de neutralizar alrededor del 30% de los ácidos grasos producidos (2).

Es importante realizar un proceso de adaptación al cambio de la dieta de las vacas lecheras ya que si se obvia este proceso, se genera un incremento de bacterias resistentes al pH bajo como *Streptococcus bovis* y protozoarios ciliados que son productoras de lactato, el cual al unirse con el acetato disminuye el pH de manera brusca, cesando la producción de butirato y acetato, causando graves daños a nivel ruminal, por lo tanto el tiempo se requiere de 10 a 21 días de transición en la dieta para que la microbiota se adapte (2).

El líquido ruminal durante el día varía el pH de acuerdo a la dieta, por lo tanto, durante las 2 a 4 horas post ingesta de carbohidratos altamente solubles el pH baja rápidamente debido a la mayor cantidad de AGVs producidos en especial el lactato; no obstante, para que la vaca mantenga su productividad y buen estado de salud, el pH debe mantenerse en 6,35, y para ello es necesario realizar el examen de líquido ruminal ya que el pH ruminal es un indicador directo del equilibrio ácido-base a nivel de campo (20).

Para la evaluación del pH del líquido ruminal se debe tomar en cuenta el lugar y hora de obtención de la muestra, puesto que los valores del pH pueden variar de acuerdo a la técnica utilizada sea esta la ororruminal o la ruminocentesis sea ventral o dorsomedial. En la actualidad se recomienda trabajar con la ruminocentesis para la evaluación de licor ruminal a nivel de campo, ya que la técnica ororruminal tiende a contaminar la muestra con la saliva y altera los valores del pH (19).

1.3. ¿Qué es la acidosis ruminal?

La acidosis ruminal es una enfermedad metabólica que disminuye el pH debido a un desbalance alimenticio entre fibra bruta y carbohidratos no fibrosos, que provocan una rápida fermentación, causando la muerte de bacterias celulolíticas y protozoarios y la proliferación de bacterias ácido tolerantes productoras de ácido láctico, este fenómeno

bloquea en los receptores epiteliales de la mucosa ruminal, inhibe los centros gástricos, evita la absorción de los AGV, causando una atonía y distensión ruminal por el acumulo de gases (8).

Los tipos de acidosis ruminal, son clasificados de acuerdo al pH del medio, valores menores a 5,2 se la considera una acidosis aguda o clínica; mientras que, valores entre 5,2 a 5,6 es una acidosis subaguda o subclínica, las dos presentaciones tienen efectos adversos sobre el rendimiento productivo del animal. En la acidosis subclínica se puede presentar abscesos hepáticos, baja conversión alimenticia, caída de la producción de leche y de la grasa láctea en tanto, la acidosis aguda provoca fiebre, diarrea, deshidratación y disminución en el consumo de alimento (13).

Durante el primer tercio de lactancia los animales se encuentran en su pico de producción pero enfrentan el balance energético negativo y para compensar sus requerimientos de producción y mantenimiento, los animales son alimentados con dietas de alto contenido energético y cuando no están adaptados presentan baja producción de leche, diarreas, disminución del consumo de alimento, infosura, desplazamiento de abomaso, abscesos hepáticos y ruminitis (21).

Los cuadros clínicos de la acidosis ruminal presentan deshidratación debido al aumento de osmolaridad del contenido ruminal provocando una movilización de líquido extracelular al lumen del rumen, la misma que de no controlarla puede desencadenar en un cuadro de Acidosis Metabólica, alterando los valores de las constantes fisiológicas y pudiendo desencadenar en la muerte del animal si este no es tratado a tiempo (21), incrementando el costo de mantenimiento de los animales en la granja.

1.4. Probióticos.

Los probióticos son esencialmente microorganismos vivos que al ser administrados al hombre o animales, en mezclas o por separado, benefician al hospedador mejorando las propiedades de la microbiota intestinal original (22), en los bovinos con alteraciones metabólicas los probióticos tienen la capacidad de reestablecer la flora

normal mejorando su condición de salud y productiva debido a una mejor degradación del alimento consumido (23).

Los probióticos producen un efecto beneficioso al mejorar la producción de ácidos grasos volátiles, incrementan la utilización de amonio, modifican la proporción de protozoarios del rumen y reducen los niveles de oxígeno presente en el medio; por lo tanto, se produce un incremento del consumo de materia orgánica (MO), incrementando de esta manera la disponibilidad de energía que se distribuye para el mantenimiento y producción de leche. (8).

Estudios realizados sobre los probióticos en humanos reflejan una simbiosis entre los microorganismos intestinales y el huésped, con la colonización de la mucosa intestinal a estos microorganismos se les atribuye funciones metabólicas, tróficas, protectoras e inmunomoduladores; sin embargo, el desafío que enfrentan los probióticos en monogástricos, se debe a la digestión gástrica antes de llegar al intestino, razón por la cual es necesario contar con medios que les proteja de la acción enzimática y puedan cumplir su propósito a nivel del borde de cepillo del enterocito (24).

1.5. Lactobacillus.

Las bacterias del género *Lactobacillus spp*, son bacterias propias del tracto intestinal que se consideran como una alternativa para mejorar los parámetros de salud y rendimiento productivo en los animales de interés zootécnico (25). Pues en un estudio realizado en ratones se demostró que protegen la mucosa intestinal de la gastritis erosiva al inducir la producción de prostaglandina I y E, elevando en la mucosa intestinal el flujo sanguíneo y la secreción de bicarbonato (26).

1.6. Mecanismo de acción de los lactobacillus en el organismo.

En un estudio sobre el mecanismo de acción de los lactobacillus sobre la mucosa intestinal de pollos de engorde ha demostrado mejorar la absorción de nutrientes debido a la producción de vitaminas y ácidos grasos de cadena corta que al adicionarse al lumen acidifican y aceleran las reacciones bioquímicas de la digestión lo cual mejora

la digestibilidad de los nutrientes traduciéndose en un incremento de peso y menor riesgo de padecer enfermedades (27).

En un estudio en cerdos lactantes se destaca el efecto de los lactobacillus como inhibidores de la actividad de toxinas cuando fueron suplementados en dietas, donde se observó la disminución de diarreas por la producción de bacteriocinas, ácidos orgánicos y sustancias con actividad antibiótica que suprimen el crecimiento de microorganismos patógenos, aumentando de esta manera la inmunidad al estimular la secreción de IgA y linfocitos en la mucosa intestinal (28).

En rumiantes, aumentan las concentraciones de amoníaco en rumen, incrementan la digestibilidad de la fibra y absorción del nitrógeno, favoreciendo el conteo de bacterias hasta 12,5 millones de UFC/mL del contenido ruminal, en comparación al nivel normal de 1,5 millones de UFC/mL, además se registra una disminución de la metanogénesis incrementando la disponibilidad de energía para el animal (29). Los lactobacillus son muy versátiles y pueden crecer utilizando diferentes sustratos como D y L-lactato, formato, acetato, etanol, acetoína y 2,3-butanediol (30).

En un estudio realizado en cabritos suplementados con probióticos (29), se demostró una disminución en el tiempo de crecimiento y mayor peso corporal, atribuyéndole el efecto a la alta digestibilidad de la fibra y mayor disponibilidad de proteína microbiana por lo que se afirmó que las bacterias ácido lácticas llevaron a una mayor concentración de amoníaco ruminal en comparación a los cabritos que no recibieron los lactobacillus en la dieta.

Un estudio realizado en terneros de 2 semanas de vida alimentados con leche adicionada *Lactobacillus acidophilus*, demostró una mejor absorción de nutrientes, menor pérdida de peso, disminución en la proliferación de bacterias del grupo coli con menos presencia de diarreas frente al grupo control, en cuanto al costo beneficio entre tratamientos el grupo con probióticos demostró una disminución en 2,75 veces el costo del tratamiento en comparación al grupo que no consumió probióticos (31).

1.7. Levaduras.

Las levaduras son un plus para el ganado ovino y bovino, pues se ha observado respuesta favorable en la fermentación ruminal, influencia sobre el pH, producción de AGV, mitigación en la síntesis de amoníaco e incremento de la digestibilidad de la materia orgánica. Por otro lado, al aplicar diferentes dietas con hongos, levaduras y combinados, no se alterarán los niveles de ácidos (isoácidos), simplemente aumento la población de bacterias no solo celulolíticas, sino también las proteolíticas (20).

Las levaduras son una valiosa fuente de proteína y vitaminas en la alimentación de los animales, pues se describen resultados positivos en aves y cerdos. En rumiantes se han alcanzado valores de 18 a 20% de materia orgánica más altos que animales donde su dieta ha sido excedente de levaduras; así mismo sucede con la proteína bruta, elevando valores de 32 a 36%. A todo esto, se le suma el efecto trófico en la mucosa mediante la producción de poliaminas y un efecto inmunoestimulante (32).

1.8. Mecanismo de acción de las levaduras en el organismo.

Las levaduras, tiene la capacidad de colonizar la mucosa intestinal impidiendo la adhesión de bacterias patógenas, acción similar a los APC, mientras que los derivados de la pared celular de las levaduras tienen propiedades inmunoestimulantes, pues se ha demostrado que incluir levaduras en la dieta de pollos de engorde reduce la mortalidad y mantiene los parámetros productivos similares a los encontrados usando APC, resultados que se pueden extrapolar para otras especies (33).

Las levaduras utilizan el oxígeno presente en el rumen creando un ambiente anaerobio ideal para el desarrollo de bacterias utilizadoras de lactato, bacterias celulolíticas y utilizadoras de amoníaco. En nutrición animal la levadura *Saccharomyces spp* es muy utilizada, por sus características organolépticas (20). Sin embargo su acción se ve limitada debido a la forma de su presentación, forma de aplicación, dosificación y proceso de obtención (33).

Las levaduras del género *Saccharomyces spp* y los subproductos obtenidos (nucleótidos y péptidos) reestablecen la flora ruminal y mantienen una eubiosis equilibrando los procesos fisiológicos de digestión (34), en lechones post destete se observó un beneficio en el comportamiento nutricional al mejorar el índice de conversión, peso al sacrificio y rendimiento a la canal; en este caso se explica que hubo una elongación del tracto gastrointestinal, con mayor disponibilidad de nutrientes (35).

En novillos de engorde la levadura *Saccharomyces spp*, en el rumen estimuló la proliferación de bacterias celulolíticas y produciendo una mayor disponibilidad de proteína microbiana (36). De la misma manera, en ovejas hubo una disminución de gases (O₂) en el rumen reduciendo el potencial Redox, mejorando el ambiente para el crecimiento de las bacterias celulolíticas, y mejor descomposición de los Hidratos de Carbono, obteniendo mayor disponibilidad de AGVs para las ovejas (37).

La alimentación con levaduras en cabritos prerumiantes es considerada una medida preventiva ante el síndrome de diarrea neonatal

El síndrome de diarrea neonatal causado por bacterias enteropatógenas como *Salmonella spp.*, *Escherichia coli.*, *Clostridium spp.*, *Eimeria spp.*, en prerumiantes, es el principal problema de mortalidad temprana y pérdida para el productor, por esta razón las levaduras son alternativas determinantes para el control de la fermentación, la estimulación del desarrollo de la microbiota en el neonato y la inmunomodulación, aumentando las concentraciones de inmunoglobulinas en la sangre de corderos y becerros (4).

La aplicación de levaduras (*Saccharomyces spp*) en los rumiantes en general, restablece la producción, ya que el mecanismo de acción de las levaduras se debe a la potenciación de los microorganismos encargados de degradar la fibra, por eso hay mayor liberación de energía; considerando, al mismo tiempo estabilización del pH ruminal, la conversión alimenticia mejora en un 4.8%, y al mismo tiempo aumenta el contenido de grasa en leche en un 3.55% (38).

En pollos de engorde la levadura *Saccharomyces spp*, provoca una mayor amplitud de las criptas en el duodeno y yeyuno, aumentando el tamaño en las vellosidades en un 5.3% en comparación a pollos que no reciben levaduras en su alimento como suplemento directo. y la capacidad de absorción de los nutrientes que este disponibles para el animal permitiendo así, aumentar la ganancia de peso y optimizando la conversión alimenticia (39).

En terneras alimentados con levaduras después de los 4 a 6 meses de edad, la digestibilidad aparente de la materia seca, los nutrientes totales, FND y FAD son mejores, esto se explica debido al aumento de la capacidad fermentativa del rumen, se reduce el amonio en el rumen favoreciendo la síntesis de proteína microbiana, y por último se recalca su actividad detoxificante de micotoxinas y toxinas bacterianas, disminuyendo la incidencia y duración de diarreas de origen infeccioso (40).

En animales expuestos a acidosis ruminal donde se evaluó los niveles de glóbulos blancos, se reportan cuadros de eosinofilia debido a que los eosinófilos tratan de neutralizar la histamina, serotonina y bradicinina. La hemoglobina tiende a disminuir sus niveles en casos de cetosis aguda o crónica, y también en acidosis metabólica y ruminal en el caso de los rumiantes sometidos a este tipo de trastornos (41).

Indicadores de salud

Los indicadores de salud permiten conocer el estado de sanitario de una población y establecer un diagnóstico, que son útiles para realizar análisis epidemiológicos e investigativos (42), en los sistemas de producción animal se busca establecer condiciones sanitarias idóneas para que el ganado pueda expresar todo su potencial productivo, razón por la cual es necesario establecer herramientas de diagnóstico y programas de prevención de enfermedades (43).

La evaluación de las constantes fisiológicas de los animales nos brinda una guía para la identificación de cuadros patológicos que afecten al animal, entre ellas tenemos la frecuencia cardiaca, frecuencia respiratoria y temperatura corporal, como también se encuentran los exámenes complementarios de sangre, heces, orina entre otros, los

mismos que permitirán confirmar o descartar el diagnóstico presuntivo establecido, con la finalidad de establecer un tratamiento adecuado (43).

A nivel general el perfil metabólico y hematológico en rumiantes alimentados con probióticos es contradictoria (44), los indicadores hematológicos permanecen sin variabilidad en los animales alimentados con probióticos de los que no; sin embargo, el estudio de los indicadores hematológicos permite conocer la relación del estado de salud de los animales, las deficiencias nutricionales y el grado de bienestar animal en las explotaciones ganaderas (42).

CAPÍTULO II. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Área de estudio:

El estudio se desarrolló en la granja Nero de propiedad de la Universidad de Cuenca ubicada en la parroquia Baños, cantón Cuenca, a una altura de 3.100 metros sobre nivel del mar (msnm), con 60,75 mm de precipitación media anual, humedad relativa media de 80,75% y temperatura máxima 13,5 °C mínima. 6,7 °C. en el periodo comprendido: octubre 2022 a junio 2023.

2.2 Dieta basal utilizada:

La alimentación ofrecida a los animales se basó en: raygrass perenne (*Lolium perenne*), raygrass anual (*Lolium multiflorum*), pasto azul (*Dactylis glomerata*), kikuyo (*Pennisetum clandestinum*) y trébol blanco (*Trifolium repens*), y balanceado compuesto por 37 % de tamo de avena, 28% de afrecho de trigo, 25% de maíz molido, 4% de pasta de soya, 3% de sal mineral y 3% de melaza de caña. El balanceado preparado se ofreció 2,5 Kg dos veces al día, en el horario de 06:00 am y 04:00 pm, según los requerimientos mínimos nutricionales para vacas productoras de leche, recomendado por las normas NRC (45), con disponibilidad de agua *ad libitum* las 24 horas.

2.3 Obtención de los probióticos empleados en el estudio.

Los bioaditivos con acción probiótica se obtuvieron según la metodología descrita por Miranda (46). Los probióticos del Tra1, se obtuvieron fermentando residuos agroindustriales (vinaza de naranja y melaza de caña de azúcar) con *Lactobacillus acidófilo* 7.2×10^5 UFC/mL y *L. bulgaricus* 7.3×10^6 UFC/mL. Los probióticos del Tra2, se obtuvieron fermentando residuos agroindustriales empleados en el Tra1 con levaduras de género *Kluyveromyces fragilis* 7.4×10^6 UFC/mL y *Saccharomyces cerevisiae* 7.2×10^7 UFC/mL.

2.4 Tamaño de la muestra empleada y evaluación de la dosis de probiótico.

El presente trabajo se desarrolló en dos etapas, en la primera etapa se determinó la dosis de probiótico a administrar y en la segunda etapa se evaluó el efecto del probiótico sobre los indicadores de salud, zootécnicos y productivos.

Primera etapa

Para la determinación de la dosis de probióticos, se emplearon un total de 24 vacas de la raza Holstein Friesian, clínicamente sanas, con peso vivo de 450 ± 25 kg, 4.5 ± 0.8 años de edad y condición corporal de 3; todas vacías, estas fueron distribuidas en ocho grupos de tres animales cada uno.

La administración de los probióticos se realizó por vía oral, la primera administración fue en forma de mono dosis, cuatro horas después de retirar el alimento, mientras que a partir de la segunda dosis los probióticos se administraron a las 6:00 am, la dosis sugerida fue inoculada en 50gr de balanceado cada tres días. Finalmente se procedió a observar de manera sistemática e independiente los cambios clínicos en los animales durante 30 días, tiempo que duro el estudio, para facilitar el registro de información y manejo de los animales, estos estuvieron identificados con aretes. Las dosis administradas se muestran en la tabla 1.

Tabla 1. Evaluación de la dosis apropiada para vacas productoras de leche.

Grupo	Dosis, mL	Tra 1
G1	25	Aditivo fermentado con (<i>Lactobacillus acidófilo</i> 7.2×10^5 UFC/mL y <i>Lactobacillus bulgaricus</i> 7.3×10^6 UFC/mL)
G2	50	Aditivo fermentado con (<i>Lactobacillus acidófilo</i> 7.2×10^5 UFC/mL y <i>Lactobacillus bulgaricus</i> 7.3×10^6 UFC/mL)
G3	75	Aditivo fermentado con (<i>Lactobacillus acidófilo</i> 7.2×10^5 UFC/mL y <i>Lactobacillus bulgaricus</i> 7.3×10^6 UFC/mL)
G4	100	Aditivo fermentado con (<i>Lactobacillus acidófilo</i> 7.2×10^5 UFC/mL y <i>Lactobacillus bulgaricus</i> 7.3×10^6 UFC/mL)
Trata2		
G5	25	Aditivo fermentado con mezcla de levaduras (<i>Kluyveromyces fragilis</i> 7.4×10^6 UFC/mL y <i>Saccharomyces cerevisiae</i> 7.2×10^7 UFC/mL)
G6	50	Aditivo fermentado con mezcla de levaduras (<i>Kluyveromyces fragilis</i> 7.4×10^6 UFC/mL y <i>Saccharomyces cerevisiae</i> 7.2×10^7 UFC/mL)
G7	75	Aditivo fermentado con mezcla de levaduras (<i>Kluyveromyces fragilis</i> 7.4×10^6 UFC/mL y <i>Saccharomyces cerevisiae</i> 7.2×10^7 UFC/mL)
G8	100	Aditivo fermentado con mezcla de levaduras (<i>Kluyveromyces fragilis</i> 7.4×10^6 UFC/mL y <i>Saccharomyces cerevisiae</i> 7.2×10^7 UFC/mL)

UFC, unidades formadoras de colonias. mL, mililitros

Segunda etapa

Para evaluación de los indicadores zootécnicos, productivos y de salud, se emplearon un total de 18 vacas de la raza Holstein Friesian, clínicamente sanas, edad de $4 \pm 0,5$ años, peso vivo de 500 ± 50 Kg y condición corporal 3 - 3,5; todas de tercer parto, distribuidas en tres grupos de 6 animales cada uno.

La administración de los probióticos se realizó por vía oral, la primera administración fue en forma de mono dosis, el día del parto, mientras que, a partir de la segunda dosis, los probióticos se administraron a las 6:00 am, inoculados en 50gr de balanceado cada tres días; el control recibió 50 mL de agua destilada el día del parto. El estudio tuvo una duración de 75 días y para facilitar el registro de información y manejo de los animales, estos estuvieron identificados con aretes. El tratamiento empleado se indica en la tabla 2

Tabla 2. Tratamientos empleados en el estudio.

Variantes	Sustratos empleados en el estudio
Tra1	Dieta basal + 50 mL de bioaditivo fermentado con mezcla de bacterias (<i>Lactobacillus acidófilo</i> 7.2×10^5 UFC/mL y <i>Lactobacillus bulgaricus</i> 7.3×10^6 UFC/mL)
Tra2	Dieta basal + 50 mL de bioaditivo fermentado con mezcla de levaduras (<i>Kluyveromyces fragilis</i> 7.4×10^6 UFC/mL y <i>Saccharomyces cerevisiae</i> 7.2×10^7 UFC/mL)
Tra3 Control	Dieta basal sin aditivo microbiano

UFC, unidades formadoras de colonias. mL, mililitros

2.5 Evaluación de los indicadores de salud.

Obtención y análisis de líquido ruminal:

La muestra de líquido ruminal (LR) se obtuvieron mediante la técnica de rumenocentesis dorsomedial según lo descrito por Noro, (19), para este proceso se

empleó una aguja N° 14 de 10 cm de longitud, la punción se realizó en la región ventral de la zona para lumbar izquierda, a 20 cm en dirección ventral, con previa tricotomía y desinfección de la zona a punzar. La extracción de 30 mL del LR en las vacas se realizó cada 15 días, a las 12:00 pm, durante 75 días postparto.

El análisis físico (color, olor, flotación y pH) y la actividad microbiana del líquido ruminal se realizó basándose en la metodología descrita por Núñez (47)

Tabla 3. Examen físico del Líquido ruminal.

Variable	Animal sano	Acidosis ruminal	Alcalosis ruminal	Putrefacción ruminal
Color	Verde olivo	Verde Grisáceo o lechoso	Verde café	Verde negruzco
Olor	Aromático no repulsivo	Acido picante	Amoniacal	Pútrido
Flotación	Positivo	Negativo	Negativo	Negativo

Fuente: (47)

Color y olor: para la evaluación de estas variables se utilizaron 10 ml de líquido ruminal, mismos que fueron colocados en tubos de ensayo, seguidamente fue evaluado basándose en la técnica descrita por Núñez (47), durante todo el estudio (75 días de estudio).

Flotación: para evaluar este parámetro se colocó 10 ml de líquido ruminal en un tubo de ensayo de vidrio y se dejó reposar entre 4 y 8 minutos, hasta observar el fenómeno de flotación.

pH: para la medición de pH del líquido ruminal, se utilizó un pHmetro portátil (Cheriöll®, China), esta fue calibrado utilizando las soluciones buffer a 4,00; 6,86 y 9,18, según las recomendaciones del fabricante. El rango de medición del pHmetro fue de 0,00 - 14,00, resolución 0,01y precisión de $\pm 0,01$.

Actividad microbiana

Para evaluar este parámetro se utilizó la prueba oxido reductiva del azul de metileno según lo descrito por Núñez (47) para esta prueba se utilizó 0,5 mL de azul de metileno a una concentración del 0,03%, vertida en 10 ml de líquido ruminal, este proceso se realizó de manera inmediata a la obtención de LR, la comparación se realizó con la muestra testigo del mismo animal, finalmente se registró el tiempo que tarda en degradarse el color y alcanzar la tonalidad de la muestra testigo según lo descrito por Núñez (47).

Evaluación de la frecuencia cardiaca, frecuencia respiratoria y temperatura rectal.

El registro de la frecuencia cardiaca, frecuencia respiratoria y temperatura rectal animales se realizó cada 5 días desde el inicio (día del parto) hasta el día 75, periodo que duró el estudio, con esta información se valoró la salud de los animales.

Evaluación de perfil hematológico y analitos bioquímicos.

El muestreo de sangre se realizó el día del parto y cada 15 días hasta final del estudio (75 días postparto), la extracción de sangre se realizó a las 12:00, la muestra se obtuvo de la vena coccígea, mediante una aguja tipo vacutainer N°21, en tubos de 4 mL de capacidad con anticoagulante EDTA para el perfil hematológico, mientras que para análisis bioquímico se utilizó tubos de 10 mL sin anticoagulante, las muestras fueron transportadas en un cooler a 6 °C, en un periodo de dos horas hasta llegar a laboratorio clínico de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad de Cuenca.

Las muestras fueron procesadas en el equipo: Analizador Automático de Hematología (ZYBIO Z5, Zybio, China) exclusivamente de uso veterinario, según la metodología de citometría de flujo. Donde se analizaron los siguientes marcadores sanguíneos: Hemoglobina (Hb), Hematocrito (Hct), Recuento de glóbulos blancos (WBC), Neutrófilos (Neu), Linfocitos (Lym), Monocitos (Mon), Eosinófilos (Eos), Basófilos (Bas) y Volumen Corpuscular Medio (VCM).

Para el análisis de los metabolitos bioquímicos las muestras fueron centrifugadas por 10 minutos a 3500 revoluciones por minuto y el suero sanguíneo fue analizado en el

equipo: FUJI DRI-CHEM ANALYZER, (NX500i. Fujifilm, Japón), usando la técnica de espectrofotometría, donde se analizaron los siguientes metabolitos sanguíneos; Proteínas totales (Pt), Colesterol Total (Colt) y Aspartato Aminotransferasa (AST)

2.6 Indicadores zootécnicos y productivos

Evaluación de condición corporal: La condición corporal se evaluó al inicio (día del parto), y cada cinco días durante 75 días que duró el experimento, para ello se utilizó la tabla de condición corporal estandarizada para vacas lecheras propuesto por Alpizar C. (48)

Pesaje de las vacas: El pesaje de los animales en estudio se realizó al inicio (día del parto), y cada cinco días durante 75 días que duró el estudio, el registro de peso se realizó a las 07:00 am, para el pesaje se utilizó una cinta bovino métrica según lo descrito por Aguirre L. (49), con esta información se calculó la ganancia de peso (GP).

Característica nutritiva de la leche: Para la determinación de la cantidad de la grasa, la proteína y el pH de la leche, se utilizó el equipo de analizador de leche mediante ultrasonido, MILKOTESTER- Master Eco, (23372, Bulgaria).

Para medir el pH de la leche, se utilizó el equipo: PH-Metro BOECO–BT – 675 (JC 00316, Alemania). La calibración se realizó de acuerdo con las recomendaciones del fabricante, con las soluciones buffer de 4, 6,86, y 9,18, más agua destilada para su limpieza.

2.7 Análisis estadístico.

Para la distribución de grupos entre tratamientos se empleó un Diseño Completamente al Azar, los datos obtenidos fueron analizados mediante el paquete estadístico IBM SPSS Statistics 26[®] para las pruebas paramétricas se realizó un ANOVA simple, para la comparación entre tratamientos de las variables cuantitativas, se realizó la prueba de Dunnet unilateral y para las variables cualitativas se utilizó la prueba de Chi cuadrado, ambas con un intervalo de confianza al 95%.

CAPÍTULO III. RESULTADOS

Determinación de la dosis de probiótico estudiado para vacas lecheras.

Los valores para la ganancia de peso (GO), ganancia media diaria (GMD) y condición corporal (CC) a las diferentes dosis administradas a vacas vacías se observa en la tabla 4. Para el Tra1 y Tra2 se observó una mejor GP al día 30 con las dosis de 50, 75 y 100ml frente a la dosis de 25ml. La GMD presenta los valores más bajos para la dosis de 25ml, mientras que para las dosis 50, 75 y 100ml los valores son muy similares. La CC presenta mejores valores para la dosis de 50ml al día 30 del estudio.

Tabla 4. Determinación de dosis de probiótico estudiado.

Indicadores	Tiempo, d	Tratamiento 1, dosis mL				EE	p-valor
		25	50	75	100		
Ganancia de peso	Inicio	452	451	452	452	0.06	0.0856
	15	8.25	9.45	9.52	9.64	0.08	0.0124
	30	8.45	9.58	9.64	9.71	0.05	0.0112
Ganancia media diaria	15	0.55	0.63	0.63	0.64	0.07	0.0012
	30	0.56	0.64	0.64	0.65	0.08	0.0211
Condición corporal	Inicio	3.05	3.04	3.04	3.05	0.12	0.6521
	15	3.25	3.28	3.25	3.29	0.10	0.2541
	30	3.31	3.41	3.38	3.35	0.11	0.5231
Tratamiento 2, dosis mL							
Ganancia de peso	Inicio	451	452	451	452	0.12	0.5781
	15	8.28	9.59	9.62	9.68	0.08	0.0121
	30	8.56	9.68	9.72	9.76	0.06	0.0021
Ganancia media diaria	15	0.55	0.64	0.64	0.65	0.07	0.0012
	30	0.57	0.64	0.65	0.65	0.12	0.0023
Condición corporal	Inicio	3.04	3.04	3.04	3.04	0.06	0.6781
	15	3.22	3.22	3.21	3.23	0.10	0.8971
	30	3.31	3.35	3.34	3.33	0.09	0.6789

Tra1, sustrato fermentado con *L. acidophilus* (7.2×10^5 UFC/mL) y *L. bulgaricus* (7.3×10^6 UFC/mL). **Tra2**, sustrato fermentado con *S. cerevisiae* (7.2×10^7 UFC/mL) y *K. fragilis* L-4 (UCLV) (7.4×10^6 UFC/mL).

El ensayo culminó con un 100% de supervivencia de los animales y no se observaron síntomas de toxicidad luego de la administración del probiótico a las diferentes dosis en estudio por lo que se recomendó el uso de estos microorganismos como probióticos. Por lo anteriormente mencionado y por no contar con estudios precedentes realizados

se tomó la decisión de utilizar 50 mL de aditivo microbiano en las vacas post parto, ya que las dosis de 75 y 100 ml presentan resultados muy similares a este.

Valoración de los parámetros de salud

Los indicadores relacionados con el color del líquido ruminal en las vacas en la etapa postparto, se reporta en porcentajes en la Tabla 5. El parámetro de color, en las evaluaciones realizadas entre el día 0 al día 45 postparto, no presentaron diferencia significativa ($X^2 \geq 0,05$), entre tratamientos, ya que todas presentaron un color verde olivo; no obstante, los días 60 y 75, los animales de Tra1 y Tra2, presentaron color verde olivo, mientras que hubo diferencia significativa ($X^2 < 0,05$) en los animales del grupo control quienes presentaron un color verde olivo y verde lechoso.

Tabla 5. Indicadores de las características del color de líquido ruminal de las vacas en la etapa postparto, manejados bajo tres tratamientos.

Días, d	Indicadores Color	Tratamientos evaluados (%)			Valor X ²
		Control	Tra1	Tra2	
0	VO	33,33	33,33	33,33	0,9999
	VL	-	-	-	-
15	VO	33,33	33,33	33,33	0,9999
	VL	-	-	-	-
30	VO	33,33	33,33	33,33	0,9999
	VL	-	-	-	-
45	VO	33,33	33,33	33,33	0,9999
	VL	-	-	-	-
60	VO	16,67 ^b	33,33 ^a	33,33 ^a	0,0273*
	VL	16,67	-	-	-
75	VO	16,67 ^b	33,33 ^a	33,33 ^a	0,0273*
	VL	16,67	-	-	-

Control, dieta basal sin aditivo. **Tra1**, sustrato fermentado con *L. acidophilus* y *L. bulgaricus*. **Tra2**, sustrato fermentado con *S. cerevisiae* y *K. fragilis* L-4 (UCLV). VO: Verde olivo, VL: Verde lechoso. Si X² es <0,05 hay significancia, pero si X² es $\geq 0,05$ no hay significancia.

Los indicadores relacionados al olor del líquido ruminal en las vacas en la etapa postparto, se reporta en porcentaje en la tabla 6. El parámetro de olor correspondiente al LR de las vacas, en las evaluaciones realizadas entre el día 0 al día 45 postparto, no presentaron diferencia significativa entre tratamientos ($X^2 \geq 0,05$), ya que todas

presentaron un olor aromático no repulsivo; no ocurrió así, para los días 60 y 75 donde, los grupos de animales que consumieron aditivos microbianos Tra1 y Tra2, presentaron olor aromático no repulsivo, mientras que hubo diferencia significativa ($X^2 < 0,05$), en los animales del grupo control quienes mostraron olor aromático no repulsivo y ácido picante.

Tabla 6. Indicadores de las características del olor de líquido ruminal de las vacas en la etapa postparto, manejados bajo tres tratamientos.

Días, d	Indicadores	Tratamientos evaluados (%)			Valor X^2
		Control	Tra1	Tra2	
0	Ar.	33,33	33,33	33,33	0,9999
	Pic.	-	-	-	-
15	Ar.	33,33	33,33	33,33	0,9999
	Pic.	-	-	-	-
30	Ar.	33,33	33,33	33,33	0,9999
	Pic.	-	-	-	-
45	Ar.	33,33	33,33	33,33	0,9999
	Pic.	-	-	-	-
60	Ar.	16,67 ^b	33,33 ^a	33,33 ^a	0,0273*
	Pic.	16,67	-	-	-
75	Ar.	16,67 ^b	33,33 ^a	33,33 ^a	0,0273*
	Pic.	16,67	-	-	-

Control, dieta basal sin aditivo. **Tra1**, sustrato fermentado con *L. acidophilus* y *L. bulgaricus*. **Tra2**, sustrato fermentado con *S. cerevisiae* y *K. fragilis* L-4 (UCLV). Ar: Aromático no repulsivo, Pic: Acido picante. Si X^2 es $< 0,05$ hay significancia, pero si X^2 es $\geq 0,05$ no hay significancia.

En cuanto a las pruebas de flotación del líquido ruminal en las vacas en la etapa postparto, se presenta en porcentaje en la tabla 7. Los resultados para la prueba de flotación en el líquido ruminal no fueron significativos ($X^2 \geq 0,05$) entre tratamientos, en la evaluación realizada entre los días 0 y 30 de estudio; sin embargo, en la prueba de flotación realizada a los 45, 60 y 75 días posparto hubo diferencia significativa ($X^2 < 0,05$) en las vacas que consumieron los aditivos microbianos (Tra1 y Tra2), con respecto al grupo control, este último presentó una flotación positiva y ausencia de diferencia de los otros tratamientos (Tra1 y Tra2), quienes si presentaron flotación en la muestra de LR.

Tabla 7. Indicadores de las características con respecto a la flotación del líquido ruminal de las vacas en la etapa postparto, manejados bajo tres tratamientos.

Días, d	Indicadores	Tratamientos evaluados (%)			Valor X ²
		Control	Tra1	Tra2	
0	Flot. +	33,33	33,33	33,33	0,9999
	Flot. -	-	-	-	-
15	Flot. +	33,33	33,33	33,33	0,9999
	Flot. -	-	-	-	-
30	Flot. +	33,33	33,33	33,33	0,9999
	Flot. -	-	-	-	-
45	Flot. +	27,78	33,33	33,33	0,3469
	Flot. -	5,56	-	-	-
60	Flot. +	16,67 ^b	33,33 ^a	33,33 ^a	0,0273*
	Flot. -	16,67	-	-	-
75	Flot. +	16,67 ^b	33,33 ^a	33,33 ^a	0,0273*
	Flot. -	16,67	-	-	-

Control, dieta basal sin aditivo. **Tra1**, sustrato fermentado con *L. acidophilus* y *L. bulgaricus*. **Tra2**, sustrato fermentado con *S. cerevisiae* y *K. fragilis* L-4 (UCLV). Flot+: Flotación positiva, Flot-: Flotación negativa. Si X² es <0,05 hay significancia, pero si X² es ≥ 0,05 no hay significancia.

Los valores del pH de líquido ruminal en las vacas en la etapa postparto, se presenta en la tabla 8. El pH del líquido ruminal al día 0 del estudio no presento diferencia significativa ($p > 0,05$) entre tratamientos; no ocurrió así para la evaluación realizada al día 15, 30, 45, 60 y 75, donde hubo diferencia significativa ($p < 0,05$), obteniéndose valores bajos para el tratamiento control frente a los tratamientos 1 y 2, y valores aún más bajos para el tratamiento control en los días 60 y 75.

El TRAM no presento diferencia significativa ($p > 0,05$) entre tratamientos al día 0 del estudio; no así, el día 15 del estudio se observa una diferencia significativa ($p < 0,05$), entre el tratamiento control y el tratamiento 1, pero no hay diferencia significativa para el tratamiento 2 ($p > 0,05$); sin embargo, entre el día 30 al 75 se observó diferencia

significativa ($p < 0,05$), entre los tratamientos 1 y 2 frente al tratamiento control el cual presento valores más altos.

Tabla 8. Valores del análisis de pH y TRAM del líquido ruminal de las vacas en la etapa postparto, manejados bajo tres tratamientos.

Días, d	Indicadores	Tratamientos evaluados			E.E	p-valor
		Control	Tra1	Tra2		
0	pH	5,9	5,9	5,9	0,02	0,397
	TRAM	290,8	246,2	272,5	9,68	0,169
15	pH	5,9 ^b	6,0 ^a	6,0 ^a	0,02	0,008*
	TRAM	319,5 ^a	242,2 ^b	286,0 ^{ab}	11,90	0,018*
30	pH	5,9 ^b	6,1 ^a	6,1 ^a	0,04	0,000*
	TRAM	367,3 ^a	264,5 ^b	285,2 ^b	13,04	0,000*
45	pH	5,7 ^b	6,1 ^a	6,1 ^a	0,04	0,000*
	TRAM	394,7 ^b	261,7 ^a	289,8 ^a	16,42	0,000*
60	pH	5,6 ^b	6,2 ^a	6,2 ^a	0,07	0,000*
	TRAM	411,2 ^b	268,2 ^a	293,2 ^a	17,06	0,000*
75	pH	5,6 ^b	6,2 ^a	6,2 ^a	0,07	0,000*
	TRAM	435,8 ^b	255,2 ^a	297,3 ^a	20,08	0,000*

Control, dieta basal sin aditivo. **Tra1**, sustrato fermentado con *L. acidophilus* y *L. bulgaricus*. **Tra2**, sustrato fermentado con *S. cerevisiae* y *K. fragilis* L-4 (UCLV). pH: pH ruminal, TRAM: Tiempo de Reducción del Azul de Metileno, Flot: Flotación. ^{a,b,c} Letras distintas dentro de una misma fila indican diferencias significativas ($p < 0,05$).

La evaluación de la Frecuencia Respiratoria (FR), Frecuencia Cardíaca (FR) y temperatura (Temp) de las vacas en la etapa postparto, se presentan en la tabla 9. El valor de la Frecuencia Respiratoria al día 0 y 60 no presentó diferencias significativas ($p > 0,05$); sin embargo, al día 30 y 75 se encontró diferencia significativa ($p < 0,05$), donde los valores más altos corresponden al tratamiento control, mientras que para el tratamiento 1 y 2 se encuentran en medias similares. El valor de la Frecuencia Cardíaca al día 0 no presento diferencias significativas ($p > 0,05$); no obstante, para los días 30, 60 y 75 si se encontró diferencia significativa entre tratamientos, siendo el tratamiento

control con los valores más altos, mientras que los valores se mantienen en medias similares entre el tratamiento 1 y 2. Se observó que los valores de temperatura no presentaron diferencia significativa ($p>0,05$), entre los días 0 y 60; sin embargo, para el día 75 el tratamiento control presentó diferencia significativa ($p<0,05$), con un valor más alto, frente al tratamiento 1 pero no hay diferencia significativa ($p>0,05$), para el tratamiento 2.

Tabla 9. Valores de frecuencia respiratoria, frecuencia cardiaca y temperatura, de las vacas en la etapa postparto, manejados bajo tres tratamientos

Días, d	Indicadores	Tratamientos evaluados			E.E	p-valor
		Control	Tra1	Tra2		
0	FR	28,0	30,0	28,0	0,40	0,198
	FC	68,3	67,7	38,3	0,38	0,733
	Temp	38,7	38,8	38,6	0,04	0,248
30	FR	25,0 ^b	22,0 ^a	21,0 ^a	0,49	0,001*
	FC	68,3 ^b	64,3 ^a	65,0 ^a	0,60	0,005*
	Temp	38,9	38,7	38,9	0,05	0,077
60	FR	24,0	24,0	24,0	0,36	0,918
	FC	70,0 ^b	67,0 ^a	65,0 ^a	0,67	0,002*
	Temp	38,9	38,7	38,7	0,05	0,110
75	FR	29,0 ^b	24,0 ^a	24,0 ^a	0,86	0,000*
	FC	75,3 ^b	63,0 ^a	63,0 ^a	1,63	0,000*
	Temp	38,9 ^b	38,6 ^a	38,7 ^a	0,05	0,044*

Control, dieta basal sin aditivo. **Tra1**, sustrato fermentado con *L. acidophilus* y *L. bulgaricus*. **Tra2**, sustrato fermentado con *S. cerevisiae* y *K. fragilis* L-4 (UCLV). FR: Frecuencia Respiratoria, FC: Frecuencia Cardiaca, Temp: Temperatura. ^{a,b,c} Letras distintas dentro de una misma fila indican diferencias significativas ($p<0,05$).

Los valores para los marcadores hematológicos y metabolitos bioquímicas en las vacas en la etapa postparto se presentan en la tabla 10. Al día 60 y 75 los valores de HCT, presentan diferencia significativa y en ambos casos el valor más alto se encuentra en los animales que consumieron el tratamiento 1 mientras que los valores más bajos se presentan en los animales que consumieron la dieta control.

El valor de WBC presenta diferencia significativa ($p < 0,05$), entre tratamientos al día 30 y 75 del estudio donde se observan valores más altos para el tratamiento 1 y valores más bajos para el tratamiento control.

El valor de neutrófilos al día 0 de estudio no se presenta diferencia significativa ($p > 0,05$), al contrario del día 30 y 60 donde si se presenta diferencia significativa ($p < 0,05$) y los valores más altos corresponde al tratamiento 1 y tratamiento 2 respectivamente, mientras que los valores más bajos corresponden al tratamiento control. No obstante, al día 75 no se encontraron diferencias significativas entre tratamientos ($p > 0,05$).

El valor de linfocitos al día 0, 30 y 60 del estudio no presentaron diferencia significativa ($p > 0,05$), sin embargo, el día 75 se encontró diferencias significativas ($p < 0,05$), con valores más altos para el tratamiento 1. El valor de monocitos no presentó diferencia significativa ($p > 0,05$), entre tratamientos durante el tiempo de estudio.

El valor de eosinófilos no presentó diferencia significativa ($p > 0,05$), entre tratamientos durante el tiempo de estudio. El valor de basófilos al día 0 del estudio presentaron diferencias significativas ($p < 0,05$), donde el valor más alto fue para el tratamiento 1, mientras que, para los días 30, 60 y 75 no se obtuvieron diferencias significativas ($p > 0,05$), entre tratamientos.

El valor de VCM no presentó diferencia significativa ($p > 0,05$), entre tratamientos durante el tiempo de estudio. Los valores para proteínas totales, colesterol y la enzima AST, no muestra diferencias significativas entre tratamientos ($p < 0,05$), durante el tiempo de estudio.

Tabla 10. Parámetros hematológicos y bioquímicos de las vacas en la etapa postparto, manejados bajo tres tratamientos.

Días, d	Indicadores	Tratamientos evaluados			EE	<i>p</i> -valor
		Control	Tra1	Tra2		
Hematología						
0	Hgb	107,7	114,7	103,5	2,63	0,225
	Hct	31,2	34,3	31,5	0,83	0,253
	WBC	5,2	10,2	7,8	0,87	0,054
	Neu	1,3	4,3	3,9	0,66	0,131
	Lym	3,0	4,2	3,0	0,47	0,522
	Mon	0,5	1,2	0,6	0,15	0,134
	Eos	0,3	0,5	0,3	0,05	0,274
	Bas	0,01 ^b	0,03 ^a	0,02 ^{ab}	0,00	0,042*
	VCM	50,8	53,6	51,8	1,32	0,696
Bioquímica						
	PT	5,0	5,1	5,0	0,27	0,729
	Col	81,7	80,3	96,2	8,73	0,738
	AST	77,3	78,0	68,2	4,93	0,687
Hematología						
30	Hgb	99,3	104,3	103,0	2,07	0,622
	Hct	29,0	30,8	29,5	0,70	0,606
	WBC	4,0 ^b	8,0 ^a	6,4 ^a	0,56	0,004*
	Neu	1,2 ^b	3,2 ^a	2,5 ^a	0,30	0,005*
	Lym	2,2	3,4	3,0	0,21	0,050
	Mon	0,4	1,0	0,5	0,10	0,055
	Eos	0,2	0,4	0,4	0,05	0,200
	Bas	0,02	0,03	0,02	0,00	0,164
	VCM	47,9	50,6	48,7	0,96	0,539

		Bioquímica Sanguínea				
	PT	4,8	5,6	6,6	0,41	0,210
	Col	85,7	100,2	102,8	10,27	0,785
	AST	73,8	75,2	108,0	8,08	0,148
		Hematología				
	Hgb	84,8 ^b	101,0 ^a	98,0 ^a	2,60	0,015*
	Hct	23,9 ^b	30,1 ^a	28,8 ^a	0,83	0,001*
	WBC	6,0	7,1	7,0	0,37	0,220
60	Neu	2,0 ^b	3,0 ^a	3,2 ^a	0,20	0,007*
	Lym	2,5	3,1	2,7	0,23	0,520
	Mon	0,6	0,6	0,6	0,03	0,890
	Eos	0,5	0,5	0,5	0,06	0,883
	Bas	0,02	0,2	0,02	0,00	0,701
	VCM	50,0	50,0	50,3	1,08	0,984
		Bioquímica Sanguínea				
	PT	4,3	5,3	4,0	0,43	0,237
	Col	63,8	106,7	56,5	10,90	0,125
	AST	59,0	63,7	53,7	4,64	0,705
		Hematología				
	Hgb	91,3	98,8	98,2	1,80	0,171
	Hct	25,0 ^b	29,1 ^a	29,0 ^a	0,68	0,012*
	WBC	4,0 ^b	7,3 ^a	6,6 ^a	0,46	0,001*
75	Neu	2,1	2,5	3,2	0,26	0,210
	Lym	2,0 ^b	3,4 ^a	2,3 ^b	0,18	0,000*
	Mon	0,5	0,6	0,6	0,03	0,637
	Eos	0,5	0,9	0,5	0,12	0,371
	Bas	0,02	0,02	0,01	0,00	0,198
	VCM	50,4	49,4	51,0	0,99	0,815

Bioquímica Sanguínea					
PT	4,1	4,2	4,7	0,33	0,755
Col	80,3	87,0	90,8	8,01	0,878
AST	60,0	57,3	67,2	4,68	0,700

Control, dieta basal sin aditivo. **Tra1**, sustrato fermentado con *L. acidophilus* y *L. bulgaricus*. **Tra2**, sustrato fermentado con *S. cerevisiae* y *K. fragilis* L-4 (UCLV). HGB: Hemoglobina, HCT: Hematocrito, WBC: Recuento de glóbulos blancos, Neu: Neutrófilos, Lym: Linfocitos, Mon: Monocitos, Eos: Eosinófilos, Bas: Basófilos, VCM: Volumen Corpuscular medio, PT: Proteínas totales, Col: Colesterol, AST: aspartato aminotransferasa, ^{a,b,c} Letras distintas dentro de una misma fila indican diferencias significativas ($p < 0,05$).

Estudio de los parámetros zootécnicos

Los valores para ganancia de peso (GP), condición corporal (CC) y talla (AC), en las vacas en la etapa postparto, se expresan en la tabla 11. La GP al día 0 y 15 del estudio no tuvo diferencia significativa ($p > 0,05$) entre tratamientos; Sin embargo, hay diferencia significativa ($p < 0,05$), a los 30, 45, 60 y 75 días pues los valores fueron superiores en las vacas que consumieron preparados microbianos de los tratamientos 1 y 2 con respecto al grupo control, destacándose el Tra1 entre los días 60 y 75 con mayor peso.

Los animales que consumieron el Tra1 incrementaron la CC en 0,8 puntos porcentuales frente al tratamiento control y 0.2 puntos porcentuales con respecto al Tra2, el valor superior ($p < 0,05$) se observó en la evaluación realizada al día 75, en los animales que consumieron en Tra1. Con relación a la talla en la alzada a la cruz (AC), no se encontraron diferencias significativas ($p > 0,05$), entre tratamientos durante el tiempo que duro el estudio.

Tabla 11. Valores de la ganancia de peso y parámetros zootécnicos de las vacas en la etapa postparto, manejados bajo tres tratamientos.

Días, d	Indicadores	Tratamientos evaluados			E.E	p-valor
		Control	Tra1	Tra2		
0	GP	538,3	541,5	539,8	3,00	0,058
	CC	3,5	3,5	3,5	0,00	--
	Talla (AC)	1,5	1,6	1,5	0,03	0,365
15	GP	492,7	507,3	492,7	3,25	0,098
	CC	3,0	3,3	3,2	0,46	0,070
	Talla (AC)	1,6	1,6	1,5	0,03	0,336
30	GP	494,5 ^b	508,5 ^a	497,0 ^b	2,51	0,041*
	CC	2,6 ^b	3,0 ^a	3,2 ^a	0,07	0,000*
	Talla (AC)	1,6	1,6	1,5	0,03	0,167
45	GP	494,7 ^b	511,8 ^a	502,0 ^{ab}	2,80	0,031*
	CC	2,5 ^b	3,0 ^a	3,0 ^a	0,09	0,010*
	Talla (AC)	1,6	1,6	1,5	0,03	0,209
60	GP	497,3 ^b	516,0 ^a	507,2 ^b	2,44	0,002*
	CC	2,4 ^c	3,3 ^a	3,1 ^b	0,10	0,000*
	Talla (AC)	1,6	1,6	1,5	0,03	0,250
75	GP	498,3 ^b	516,3 ^a	510,3 ^a	2,26	0,000*
	CC	2,5 ^b	3,5 ^a	3,3 ^a	0,11	0,000*
	Talla (AC)	1,6	1,6	1,5	0,03	0,239

Control, dieta basal sin aditivo. **Tra1**, sustrato fermentado con *L. acidophilus* y *L. bulgaricus*. **Tra2**, sustrato fermentado con *S. cerevisiae* y *K. fragilis* L-4 (UCLV). GP, ganancia de peso. CC, Condición corporal. d, día. AC, alzada a la cruz. ^{a,b,c} Letras distintas dentro de una misma fila indican diferencias significativas (p<0,05).

Estudio de los parámetros productivos

Los valores para los indicadores de la calidad de leche de las vacas en la etapa postparto se presentan en la tabla 12.

El porcentaje de la grasa en la leche al día 15, 30 y 45 no presentó diferencia significativa entre tratamientos ($p>0,05$). Mientras que al día 60 existe diferencia significativa ($p<0,05$) entre tratamientos, obteniendo mayor cantidad de grasa el tratamiento control frente a los tratamientos 1 y 2; sin embargo, para el día 75 hubo diferencia significativa ($p<0,05$) entre tratamientos, obteniendo el valor más alto el Tra2 y el valor más bajo el Tra1.

Los valores de pH no presentaron diferencia significativa ($p>0,05$) durante los días 15, 60 y 75; mientras que para el día 30 el tratamiento 1 obtuvo el valor más alto frente al tratamiento 2 ($p<0,05$), pero similar al tratamiento control y el tratamiento control no difirió del tratamiento 2 ($p>0,05$). Para el día 45 el tratamiento control presentó un pH más alto frente al tratamiento 1 ($p<0,05$), pero similar a tratamiento 2, mientras que entre el tratamiento 1 y 2 no se registró diferencia significativa ($p>0,05$). Los valores de proteína durante los días 15, 30 y 45, no presentaron diferencia significativa ($p>0,05$); no obstante, el día 60 y 75 diferencia significativa ($p>0,05$) entre tratamientos, obteniendo el valor más alto el tratamiento control.

Tabla 12. Índices de la calidad de leche de las vacas en la etapa postparto, manejados bajo tres tratamientos.

Días, d	Indicadores	Tratamientos evaluados			E.E	<i>p-valor</i>
		Control	Tra1	Tra2		
15	Grasa	3,0	3,0	3,0	0,17	0,672
	Proteína	3,0	3,0	3,1	0,05	0,513
	pH	6,7	6,7	6,7	0,01	0,848
30	Grasa	3,0	2,3	3,5	0,20	0,050
	Proteína	3,0	3,0	3,1	0,07	0,367
	pH	6,7 ^{ab}	6,8 ^a	6,7 ^b	0,01	0,046*
45	Grasa	3,3	3,0	3,0	0,19	0,201
	Proteína	3,2	3,0	3,0	0,08	0,223

	pH	6,8 ^b	6,7 ^a	6,7 ^{ab}	0,02	0,032*
	Grasa	3,5 ^b	2,3 ^a	2,2 ^a	0,23	0,020*
60	Proteína	3,2 ^a	3,0 ^b	3,0 ^b	0,07	0,006*
	pH	6,7	6,7	6,7	0,01	0,236
	Grasa	3,7 ^a	3,0 ^b	3,9 ^a	0,18	0,002*
75	Proteína	3,2 ^a	3,0 ^b	3,2 ^a	0,05	0,033*
	pH	6,7	6,7	6,7	0,01	1,000

Control, dieta basal sin aditivo. **Tra1**, sustrato fermentado con *L. acidophilus* y *L. bulgaricus*. **Tra2**, sustrato fermentado con *S. cerevisiae* y *K. fragilis* L-4 (UCLV). ^{a,b,c} Letras distintas dentro de una misma fila indican diferencias significativas ($p < 0,05$).

CAPÍTULO IV. DISCUSIÓN

Determinación de la dosis de probiótico estudiado para vacas lecheras.

Algunos estudios (42), (50) indican que la administración de preparados probióticos no presenta efectos negativos en el organismo del huésped, a lo contrario reflejan diferentes resultados relacionados con su concentración y dosis administrada, como se demuestra en el presente estudio a la dosis de 50 ml donde hubo mejores resultados para GP, GMD y CC, para el tratamiento con bacterias ácido lácticas y levaduras, esto puede deberse a una mejor competitividad de los probióticos contra bacterias patógenas, como también, la mejor digestibilidad de la fibra (51), (52).

Valoración de los parámetros de salud

Un animal sano, con una alimentación equilibrada expresa su máximo potencial productivo y por ello es importante cuidar su salud, en especial la del rumen que es la fábrica donde se procesa los alimentos y al existir alteraciones metabólicas, estas repercuten en la salud, productividad y economía del ganadero, por esa razón dentro del manejo alimenticio, se buscan los mejores aliados al momento de prevenir trastornos metabólicos siendo en este caso los probióticos una alternativa sostenible(53).

La literatura describe las características físicas del líquido ruminal de un animal sano son color verde olivo, olor aromático no repulsivo con presencia de flotación (47), características similares a las que se encontraron en los animales alimentados con probióticos. Sin embargo, también se encontró un líquido ruminal de color lechoso, con aroma ácido picante y ausencia de flotación, características similares a las descritas en cuadros de acidosis ruminal (47)(54).

La rápida fermentación carbohidratos no estructurales ocasiona un descenso en el pH del rumen debido a la excesiva producción de AGVs, su lenta velocidad de absorción y la falta de sustancia buffer llegando a niveles por debajo de 6 (55), . Esta sería la explicación de la disminución de los valores de pH en los días 60 y 75 de los animales del grupo control, mientras que los tratamientos con probióticos mantuvieron el pH

sobre 6, acción de los probióticos en mejorar la microbiota ruminal que utiliza el ácido láctico y mejora el nivel de pH (55), Así mismo se ha descrito (56) que suplementar a novillas de carne y pequeños rumiantes (57) con levaduras disminuye el nivel de ácido láctico en rumen y mejora el pH ruminal, resultado similar al encontrado en el tratamiento donde se utilizó levaduras en la dieta el mismo que presentó un pH ruminal de 6,2, considerado como normal en vacas sanas (47).

En un estudio realizado en terneros (53), donde su dieta incluía probióticos (bacterias ácido lácticas) demostró mantener un promedio constante del pH ruminal frente al grupo control donde su dieta estaba libre de probióticos, este reporte concuerda con los resultados obtenidos en el presente estudio, donde se mantuvo un mejor pH en la dieta de los animales que se alimentaron con bacterias ácido lácticas y levaduras en comparación al grupo control (58).

La prueba reductiva del azul de metileno permite conocer la actividad microbiana y se establece un rango de 3 a 6 minutos como vacas sin acidosis ruminal (47), en un estudio realizado en ovinos los valores superiores a 6 se consideran como malos por una disminución de la actividad microbiana debido a la muerte de bacterias (59), estos reportes respaldan a los encontrados en el presente estudio, donde al día 60 y 75 el tratamiento control presenta un mayor tiempo (7 minutos) en regresar a su color natural.

La acidosis ruminal se produce deshidratación por la extravasación de líquido vascular hacia el rumen y acidosis metabólica, por la disminución de la volemia, bicarbonato y aumento de CO₂ en sangre, el animal trata de compensar este desbalance, incrementando la frecuencia cardíaca y la frecuencia respiratoria con la finalidad de eliminar de forma más rápida el CO₂ (1), (2).

Por otro lado, la acidosis ruminal puede generar alteraciones en la temperatura del animal, datos que coinciden con los reportados en el presente estudio y deben ser considerados en este tipo de trastornos metabólicos producto de una alteración nutricional (50), (51), (60).

En cuanto a metabolitos sanguíneos, el hematocrito en los animales suplementados con *Lactobacillus* se incrementó; mientras que, los animales suplementados con levaduras no se observó ninguna alteración, pero para el tratamiento control el valor de los hematocritos fue más bajo, esto podría ser explicado por los cuadros de deshidratación e incremento de CO₂ en sangre (1), (2).

Las significancias encontradas en los diferentes indicadores hematológicos con valores más bajos para el tratamiento control, puede ser debido a una falta de nutrientes, cuadro febril y grado de septicemia ya que el grupo control presentó cuadros de acidosis ruminal y al no ser aprovechados los nutrientes, explicaría la causa de esta alteración (1), (44), (50); sin embargo, al comparar los valores obtenidos frente a los valores referenciales se encuentra que estos se mantienen dentro de los parámetros normales establecidos para bovinos (47), (57).

Los niveles de proteínas totales, colesterol y AST, no presentaron diferencias significativas entre tratamientos esto puede ser explicado debido a la mejor eficiencia en la degradación de la fibra hay mayor disponibilidad de AGVs, como precursores de energía en los animales a los que se les administró probióticos (61), evitando la movilización de reservas energéticas y daños hepáticos causados por abscesos, concordando con reportes obtenidos en estudios realizados en corderos (62).

Valoración de los parámetros productivos

La ganancia de peso se vio mejorada desde el día 30 del estudio; sin embargo, al día 75 se observó una ganancia de peso superior en los animales suplementados con bacterias ácido lácticas, seguido de los animales alimentados con levaduras, esto puede ser debido a que los probióticos (61) mejoran la degradación de la fibra y aumentan la disponibilidad de AGV y proteína microbiana para el huésped (63)

Los probióticos utilizados en corderos han demostrado que al estabilizar el pH ruminal mejoran la síntesis de nutrientes, la retención de nitrógeno al optimizar las actividades peptidolíticas y proteolíticas, incrementando su biodisponibilidad en el rumen y flujo

al intestino, traduciéndose en una mejor ganancia de peso y por ende incremento en la condición corporal (50) (60),

Los *Lactobacillus* son los responsables de mejorar radicalmente la ganancia de peso, al aumentar la degradación de la fibra por incremento de las bacterias celulolíticas, y al mismo tiempo aumentar la cantidad de precursores de glucosa, como es el caso de ácido propiónico a partir del ácido láctico tomado del rumen producto de la fermentación ruminal (53) (36,42,51)

La composición de la leche en cuanto al nivel de proteína coinciden con los resultados obtenidos en otros estudios (64) dónde al incluir probióticos en la dieta de vacas lactantes cambiaron los niveles de proteína en la leche y de lactosa en cuanto al tratamiento utilizado debido a la modulación de la microbiota ruminal con un impacto positivos en la digestión y absorción de AGVs.

La grasa de la leche en los animales alimentados con levaduras al día 75 del estudio presento mejores resultados con un porcentaje de 3.9%, evento que coincide con el reporte encontrados en otro estudio, (64), pues los probióticos modifican disponibilidad de ácido acético, butírico y propiónico y cambia las concentraciones de grasa y proteína en leche(63) (65)

CONCLUSIONES

- Con la inclusión de 50, 75 y 100 mL de bioaditivo, tanto de tratamiento 1 y 2 las vacas presentaron mejora en el comportamiento productivo y la salud; por lo que, la inclusión de 50 mL de probiótico en la dieta de las vacas es apropiada para esta edad.
- Los parámetros de salud ruminal de las vacas que consumieron probióticos permanecieron dentro de los valores establecidos y al estar sano el rumen los valores hematológicos, y de bioquímica sanguínea no se alteran, demostrando una modulación benéfica de la salud de los animales.
- Los animales alimentados con probióticos al mejorar y mantener un estado de salud óptimo, mejoraron su ganancia de peso, y condición corporal debido al mejor aprovechamiento de la fibra y AGVs producidos, esta optimización de nutrientes mejora la calidad de la leche en cuanto a su nivel de grasa y mantiene los niveles de proteína y pH.

RECOMENDACIONES

- Se sugiere realizar la medición de gas metano en el rumen y a nivel sanguíneo el amoníaco, para estimar con mayor cantidad de valores de referencia el efecto de los probióticos.
- Es importante tener un balance promedio de la producción total de leche del parto anterior de las vacas, para verificar el efecto de los probióticos sobre el nivel productivo de los animales suplementados, cuando estos se los aplica en su dieta.
- Es indispensable realizar una adaptación al cambio de la dieta a aquellos animales que se les suministrará los probióticos para evitar alteraciones en el organismo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Mahesh MS, Mohanta RK, Patra AK. Probiotics in Livestock and Poultry Nutrition and Health. In: *Advances in Probiotics for Sustainable Food and Medicine*. 2021. p. 149–79.
2. Blanch Saborit M. Estudio de la acidosis ruminal y nuevas estrategias de prevención. Universidad de Barcelona; 2009.
3. Elghandour MMY, Salem AZM, Castañeda JSM, Camacho LM, Kholif AE, Chagoyán JCV. Direct-fed microbes: A tool for improving the utilization of low quality roughages in ruminants. *J Integr Agric*. 2015;14(3):526–33.
4. García J, Olvera A, Yáñez D, Andrade H, Cantó G, Nva G. Efecto de la suplementación de un probiótico (*Saccharomyces cerevisiae*) sobre enteropatógenos ambientales en cabritos con crianza artificial. Universidad Autonoma de Querétaro; 2017.
5. Abd El Tawab MM, Youssef IMI, Bakr HA, Fthenakis GC, Giadinis ND. Role of probiotics in nutrition and health of small ruminants. *Pol J Vet Sci*. 2016;19(4):893–906.
6. Mccann JC, Elolimy AA, Loor JJ. Rumen Microbiome, Probiotics, and Fermentation Additives. *Vet Clin North Am - Food Anim Pract*. 2017;33:539–53.
7. Shuangyan L, Wang Y, Kang X, Liu P, Wang G. Avances de investigación sobre la asociación entre mastitis y microbios gastrointestinales en vacas lecheras y el efecto de los probióticos. *Patog microbiana* [Internet]. 2022;173. Available from:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0882401022004223>
8. Melara EG, Avellaneda MC, Valdiviami M, Garcíaia-hernandez Y, Aroche R. Probióticos: relación simbiótica con el huésped animal. *animales*. 2022;12:1–26.

9. Bouchard D, Even S, Le Loir Y. Bacterias ácido lácticas en la producción y sanidad animal. In: *Biotechnology of lactic acid bacteria: novel applications*. 2da ed. 2016. p. 144–58.
10. Avilés D, Cuétara L, Suárez D. La actividad ganadera como elemento de bienestar en las comunidades rurales del cantón Chone. *Polo del Conoc* [Internet]. 2020;5(08):1170–83. Available from: <https://polodelconocimiento.com/ojs/index.php/es/article/view/1649/html>
11. Fraga Coteló M. *Microbiota ruminal: estrategias de modulación con microorganismos fibrolíticos*. National Institute of Agricultural Research of Uruguay. Universidad de la República; 2010.
12. Campos Cuellar JH. *Fisiología de la acidosis ruminal y sus implicaciones en la producción animal* [Internet]. Zootecnia. Universidad de La Salle; 2008. Available from: <https://ciencia.lasalle.edu.co/zootecnia/86>
13. Granja Salcedo YT, Ribeiro Junior CS, Toro Gómez DJ, Rivera Calderón L, Machado M, Manrique Ardila A. Acidosis ruminal en bovinos lecheros: implicaciones sobre la producción y la salud animal. *Rev Electrónica Vet*. 2012;13(4):1–11.
14. OCDE, FAO. *Perspectivas Agrícolas 2020-2029*. 2020. 189–200 p.
15. FEPALE. *Situación de la cadena láctea en América Latina en el 2018*. 2019.
16. Barrera Rodríguez CD, López Acevedo V. *Análisis de la productividad, rentabilidad y sostenibilidad de los productores de leche cruda en el cantón Píllaro, provincia de Tungurahua*. FLACSO Ecuador; 2021.
17. Franco Crespo C, Morales Carrasco VL, Lascano R, Cuesta A. Dinámica de los pequeños productores de leche en la sierra centro de Ecuador. *La Granja Rev Ciencias la Vida*. 2019;30(2):103–20.
18. Caja G, González E, Flores C, Carro MD, Albanell E. Alternativas a los antibióticos de uso alimentario en rumiantes: Probióticos, enzimas y ácidos

- orgánicos. XIX Curso Espec FEDNA. 2003;(I):183–212.
19. Noro M, Sepúlveda P, Cárdenas F, Chihuailaf RH, Wittwer F. Rumenocentesis dorsomedial: un procedimiento seguro para la obtención de líquido ruminal en vacas lecheras a pastoreo. Arch Med Vet. 2013;45(1):25–31.
 20. García Gutiérrez S. Uso de aditivos microbianos administrados directamente al rumen en la ganadería bovina. Universidad Autonoma Agraria Antonio Navarro; 2015.
 21. Alegre Barreto S, Remuñan Armanetti ME, Sarralde Rebollo L. Evaluacion de sustancias con potencial para prevenir la acidosis ruminal: tecnica de fermentacion in vitro. Vol. 53, Universidad de la Republica. Universidad de la Republica; 2013.
 22. Vohra A, Syal P, Madan A. Probiotic yeasts in livestock sector. Anim Feed Sci Technol [Internet]. 2016;219:31–47. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2016.05.019>
 23. Prats Capote A. Probióticos: una alternativa natural como promotores de salud. Rev CENIC Ciencias Biol [Internet]. 2007;38(1):49–53. Available from: <http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=a9h&AN=31131113&lang=es&site=ehost-live>
 24. Zamora Vega R, Martínez Flores HE, Montañez Soto JL. Viabilidad de *Saccharomyces boulardii* bajo condiciones de acidez in vitro. Biotecnia. 2014;16(2):31–5.
 25. Usca Mendez JE, PeñafielAcosta SE, Brtio Zuñiga GG, Arevalo Azanza GF. Probiotic Characteristics of *Lactobacillus*: A Review. Polo del Conoc. 2020;5(08):413–25.
 26. Lazo N, Maco M, Matos Z. Efecto protector del *Lactobacillus acidophilus* en gastritis erosiva inducida por indometacina en ratones. CIMEL Cienc e Investig Médica Estud Latinoam. 2007;12(2):76–9.

27. Ramírez Reyes B, Zambrano Santisteban O, Ramírez Pérez Y, Rodríguez Valera Y, Moreales Medina Y. Evaluación del efecto probiótico del *Lactobacillus* spp. origen aviar en pollitas de inicio reemplazo de la ponedora comercial en los primeros 42 días de edad. REDVET Rev Electrónica Vet. 2005;6(9):1–8.
28. Castillo Cuenca J, Cárdenas Marín A, Cepero Rodríguez O, Silveria Prado E. Efectividad del probiótico Biopranal en la prevención del síndrome diarreico agudo en cerdos lactantes. REDVET Rev Electrónica Vet. 2010;11(1):1–7.
29. Galina MA, Puga LJPDC. Cinética ruminal y crecimiento de cabritos suplementados con un probiótico de bacterias ácido-lácticas Ruminant kinetics and growth of kids supplemented with a lactic acid bacteria probiotic. Pastos y Forrajes. 2009;32(4):395–405.
30. Jurado-Gómez H, Ramírez T C, Martínez B J. In vivo evaluation of *Lactobacillus plantarum* as an alternative to antibiotics uses in piglets. Rev MVZ Cordoba. 2013;18:3648–57.
31. Görgülü M, Siuta A, Yurtseven S, Öngel E, Kutlu HR, Kutlu EÖHR. Efecto de probióticos en el comportamiento y salud de terneros en crecimiento. Rev Cuba Ciencias Agric. 2003;37:125–9.
32. Suárez C, Guevara C. Levadura *Saccharomyces cerevisiae* en la alimentación de rumiantes. Revisión bibliográfica. ICIDCA Sobre los Deriv la Caña Azúcar. 2017;51(2):21–30.
33. Peralta M, Miazza R, Nilson A. Levadura de cerveza (*Saccharomyces cerevisiae*) en la alimentación de pollos de carne. REDVET Rev Electrónica Vet. 2008;9(10):1–11.
34. García-Castillo RF, Hernández-Martínez K, Kawas-Garza JR, Salinas-Chavira J, Vega-Ríos A, Ruiloba-Villarreal MH, et al. Effect of nucleotides and peptides from *Saccharomyces cerevisiae* (NUPRO) in the feeding of post-weaning pigs. Rev Cient la Fac Ciencias Vet la Univ del Zulia. 2014;24(1):29–37.
35. Ladino Orjuela G, Rodríguez Pulido JA. Efecto de *Lactobacillus casei*,

- Saccharomyces cerevisiae, Rhodopseudomona palustris (microorganismos eficientes em) y melaza en la ganancia de peso de tilapias (Oreochromis sp) en condiciones de laboratorio. Orinoquia. 2009;13(1):31–6.
36. Alvarez Encinas CM. Comportamiento productivo y digestibilidad de nutrientes de novillos en engorda suplementados con un aditivo a base de probióticos y enzimas digestivas. Universidad Autonoma de Chihuahua; 2017.
 37. Boggero CA. Evaluacion del Suministro de Levadura Saccharomyces cerevisiae en la alimentacion y su efecto sobre la produccion y composicion de leche de ovejas de raza pampita. [Internet]. Universidad Nacional del Litoral; 2012. Available from: z
 38. Sghirla-Herrería GE, González-Marcillo RL. Nitrógeno no proteico de liberación controlada y Levadura Saccharomyces cerevisiae en vacas lecheras. Rev Arbitr Interdiscip Koinonía. 2020;5(10):920.
 39. Quevedo DM, Ochoa JE, Corredor JR, Pulecio SL. Efectos de la adición de probiótico Saccharomyces cerevisiae sobre histomorfología intestinal en pollos de engorde. Rev la Fac Med Vet y Zootec. 2021;67(3):239–52.
 40. Ramírez A, Ortega ME, González S, Ayala CBJ. Efecto de la suplementación con dos cepas de Saccharomyces cerevisiae en el comportamiento de becerras en crecimiento. Rev Cuba Cienc Agrícola. 2003;37(2):131–7.
 41. Lopez Rodriguez A. Perfil metabólico del hato lechero del Zamorano. ZAMORANO; 2002.
 42. Soca M, Ojeda F, Canchila ER, Soca M. Efecto del probiótico Sorbial® en el comportamiento productivo y la salud animal de terneros en pastoreo. Pastos y Forrajes. 2011;34(4):463–72.
 43. de Gea GS, Trolliet JC. Salud Animal [Internet]. Sitio Argentino de producción animal. 2001. Available from: https://www.produccion-animal.com.ar/sanidad_intoxicaciones_metabolicos/infecciosas/comun_varias_especies/02-salud_animal.pdf

44. Abd El-Tawab MM, Youssef IMI, Bakr HA, Fthenakis GC, Giadinis ND. Role of probiotics in nutrition and health of small ruminants. *Pol J Vet Sci.* 2016;19(4):893–906.
45. Lalman D. Nutrient Requirements of Beef Cattle. In: *Beef Cattle Feeding and Nutrition.* 1995. p. 351–69.
46. Miranda-Yuquilema JE, Marin-Cárdenas A, Sánchez-Macías D, García-Hernández Y. Obtaining, characterization and evaluation of two candidate preparations for probiotics developed with agroindustrial waste. *Rev MVZ Cordoba.* 2018;23(1):6487–99.
47. Núñez Ochoa L, Bouda J. *Patología clínica veterinaria.* 2nd ed. Ciudad Universitaria Mexico; 2007. 149–159 p.
48. Alpízar Solís C, Romero JJ. Revisión de los aspectos para la evaluación de la nutrición y alimentación en programas de salud de hato de ganado lechero I: evaluación del hato. *Rev Ciencias Vet.* 2007;35(1):7–31.
49. Aguirre, L., y Zhinin L. *Metodos De Pesaje En Bovinos.* Boletín Técnico Divulgativo. Loja; 2010.
50. Khalid FM, Shahzad AM, Sarwar M, Rehman AU, Sharif M, Mukhtar N. Probiotics and lamb performance: A review. *African J Agric Res.* 2011;6(23):5198–203.
51. Marín Cárdenas A, Mbengue C, Miranda Yuquilema JE, Noval Artilles E. Efecto de un biopreparado probiótico sobre el comportamiento productivo y la salud de ternero. *Rev Ecuatoriana Cienc Anim.* 2020;4(1).
52. Castillo Barón LV. Probióticos y prebióticos como alimentos funcionales en nutrición animal. *Zoociencia.* 2016;3(2):15–21.
53. Qadis AQ, Goya S, Ikuta K, Yatsu M, Kimura A, Nakanishi S, et al. Effects of a bacteria-based probiotic on ruminal pH, volatile fatty acids and bacterial flora of Holstein calves. *J Vet Med Sci.* 2014;76(6):877–85.

54. Blando E, Ávila J. Acidosis Ruminal Y Sus Consecuencias. Sitio Argentino Prod Anim [Internet]. 2006;1–6. Available from: http://produccionbovina.com.ar/sanidad_intoxicaciones_metabolicos/metabolicas/metabolicas_bovinos/02-acidosis.pdf
55. Xu H, Huang W, Hou Q, Kwok L yu, Sun Z, Ma H, et al. The effects of probiotics administration on the milk production, milk components and fecal bacteria microbiota of dairy cows. *Sci Bull.* 2017;62(11):767–74.
56. Vyas D, Uwizeye A, Mohammed R, Yang WZ, Walker ND, Beauchemin KA. Los efectos de la levadura seca muerta y seca activa en la acidosis ruminal subaguda, fermentación ruminal y digestibilidad de nutrientes en novillas de carne. *J Anim Sci.* 2014;92:724–32.
57. Han G, Gao X, Duan J, Zhang H, Zheng Y, He J, et al. Effects of yeasts on rumen bacterial flora, abnormal metabolites, and blood gas in sheep with induced subacute ruminal acidosis. *Anim Feed Sci Technol* [Internet]. 2021;280(February):115042. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2021.115042>
58. Rotger Cerdà A. Fermentación ruminal, degradación proteica y sincronización energía-proteína en terneras en cebo intensivo. [Internet]. Universidad Autonoma de Barcelona; 2004. Available from: <http://www.tesisenred.net/bitstream/handle/10803/5667/arc1de1.pdf?sequence=1>
59. Torres M, Ortega O, González A, Lara M, S. S. Efectos de la Stevia rebaudiana ((KA'A HE'E) en los indicadores del metabolismo ruminal en ovinos alimentados con balaceado para engorde. *Compend Ciencias Vet.* 2015;05(2):32–7.
60. Jaramillo-López E, Itza-Ortiz MF, Peraza-Mercado G, Carrera-Chávez JM. Ruminal acidosis: Strategies for its control. *Austral J Vet Sci.* 2017;49(3):139–48.

61. Karim SA. Efecto de la alimentación de cultivos de levadura viva individuales y mixtos sobre el rendimiento del crecimiento, la utilización de nutrientes y la síntesis de proteína cruda microbiana en corderos. *Anim Feed Sci Technol.* 2010;155:163–71.
62. Kafilzadeh F, Payandeh S, Gómez-Cortés P, Ghadimi D, Schiavone A, Martínez Marín AL. Effects of probiotic supplementation on milk production, blood metabolite profile and enzyme activities of ewes during lactation. *Ital J Anim Sci* [Internet]. 2019;18(1):134–9. Available from: <https://doi.org/10.1080/1828051X.2018.1496040>
63. Rabelo CHS, Basso FC, Lara EC, Jorge LGO, Härter CJ, Mesquita LG, et al. Effects of *Lactobacillus buchneri* as a silage inoculant and as a probiotic on feed intake, apparent digestibility and ruminal fermentation and microbiology in wethers fed low-dry-matter whole-crop maize silage. *Grass Forage Sci.* 2018;73(1):67–77.
64. Tesfaye A, Hailu Y. The Effects of Probiotics Supplementation on Milk Yield and Composition of Lactating Dairy Cows. *J Phytopharm.* 2019;8(1):12–7.
65. Jia P, Cui K, Ma T, Wan F, Wang W, Yang D, et al. Influence of dietary supplementation with *Bacillus licheniformis* and *Saccharomyces cerevisiae* as alternatives to monensin on growth performance, antioxidant, immunity, ruminal fermentation and microbial diversity of fattening lambs. *Sci Rep* [Internet]. 2018;8(1):1–10. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-018-35081-4>

ANEXOS



Ilustración 1. pH metro portátil.

Grado de condición corporal	Vértebra en la espalda	Aspecto posterior del hueso pélvico	Aspecto lateral de la línea entre las caderas	Cavidad entre cadera y la tuberosidad isquiática	Aspecto posterior	Aspecto lateral
1 Subcondicionamiento severo						
2 Esqueleto obvio						
3 Buen balance de esqueleto y tejidos superficiales						
4 Esqueleto no tan obvio como tejidos superficiales						
5 Sobrecondicionamiento severo						

Ilustración 2. Técnica de valoración de condición corporal.



Ilustración 4. Cinta bovino métrica para pesaje de animales.



Ilustración 3. Analizador de leche, MILKOTESTER- Master Eco.



Ilustración 5. PH-Metro BOECO-BT – 675



Ilustración 6. Analizador Automático de Hematología ZYBIO Z5



Ilustración 7. Analizador bioquímico, FUJI DRI-CHEM ANALYZER



Ilustración 8. Administración de probiótico al día del parto.



Ilustración 12. Obtención de líquido ruminal por la técnica de ruminocentesis dorsomedial



Ilustración 10 Análisis de pH del líquido ruminal.



Ilustración 9. Obtención de muestras de sangre



Ilustración 11. Análisis de metabolitos bioquímicos y hematológicos.