

EFECTO INULINA Y *Lactobacillus casei* EN EL COMPORTAMIENTO PRODUCTIVO, VARIABLES RUMINALES Y METABOLITOS SANGUÍNEOS EN CORDEROS DESTETADOS

EFFECT OF INULIN AND *Lactobacillus casei* ON PRODUCTIVE PERFORMANCE, RUMINAL VARIABLES AND BLOOD METABOLITES IN WEANED LAMBS

Marco A. Ayala-Monter¹, David Hernández-Sánchez^{1*}, René Pinto-Ruiz², Nicolás Torres-Salado³, José A. Martínez-Aispuro¹, José R. Bárcena-Gama¹, José M. Caro-Hernández¹

¹Ganadería. Campus Montecillo. Colegio de Postgraduados. 56230. Montecillo, Estado de México. (sanchezd@colpos.mx). ²Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad Autónoma de Chiapas, Km 84.5, Carretera Ocozocoautla-Villaflores. 30470. Villaflores, Chiapas. ³Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia No. 2, Universidad Autónoma de Guerrero, Km 197 Carretera Acapulco-Pinotepa Nacional. 41940. Cuajinicuilapa, Guerrero.

RESUMEN

Las infecciones entéricas causan diarreas y muerte de corderos durante el destete, lo que representa pérdida económica. Estas infecciones se han tratado con antimicrobianos; sin embargo, su uso inadecuado causa resistencia bacteriana. Los prebióticos y probióticos pueden ser una alternativa al uso de antibióticos de los corderos durante el destete. El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto prebiótico de la inulina de *Agave tequilana* y *Lactobacillus casei* en el crecimiento, variables ruminales y hematológicas, y metabolitos sanguíneos en corderos destetados. El diseño experimental fue completamente al azar y los promedios de los tratamientos se compararon mediante la prueba de Tukey. Los tratamientos (T) se asignaron al azar a 30 corderos machos destetados (Katahdin x Dorset, 20.6 ± 0.2 kg PV): T1: testigo (dieta base); T2: T1 + 2 % inulina; y T3: T1 + 2 % inulina; + *L. casei*. Las evaluaciones incluyeron ganancia diaria de peso (GDP), consumo de materia seca (CMS), consistencia fecal y variables ruminales, hematológicas y metabolitos en sangre. Al final del estudio se recolectaron muestras fecales para recuento de coliformes totales y lactobacilos. No hubo diferencias ($p > 0.05$) en GDP, CMS, CA y variables ruminales. La combinación de inulina y *L. casei* aumentó ($p \leq 0.05$) el porcentaje de basófilos y la población de lactobacilos. La población de coliformes totales en heces fue mayor ($p \leq 0.05$) en el grupo testigo. La concentración de colesterol sérico disminuyó ($p \leq 0.05$) 10 y 7 % en T3 y T2, con respecto al grupo testigo. La inulina de *A. tequilana*

ABSTRACT

Enteric infections cause diarrhea and death of lambs during weaning, representing economic loss. These infections have been treated with antibiotics; however, their inadequate use causes bacterial resistance. Prebiotics and probiotics can be an alternative to using antibiotics in lambs during weaning. The objective of this study was to evaluate the effect of prebiotic of the inulin of *Agave tequilana* and *Lactobacillus casei* on the growth, ruminal and hematological variables, and blood metabolites in weaned lambs. The experimental design was completely randomized and the averages of the treatments were compared using the Tukey test. Treatments (T) were randomly assigned to 30 weaned male lambs (Katahdin x Dorset, 20.6 ± 0.2 kg LW): T1: control (base diet); T2: T1 + 2 % inulin; and T3: T1 + 2 % inulin + *L. casei*. Evaluations included daily weight gain (DWG), dry matter consumption (DMC), fecal consistency and ruminal and hematological variables and blood metabolites. At the end of the study fecal samples were collected for count of total coliforms and lactobacilli. There were no differences ($p > 0.05$) in DWG, FC and ruminal variables. The combination of inulin and *L. casei* increased ($p \leq 0.05$) the percentage of basophils and the population of lactobacilli. The population of total coliforms in feces was higher ($p \leq 0.05$) in the control group. The concentration of serum cholesterol decreased ($p \leq 0.05$) 10 and 7 % in T3 and T2, with respect to the control group. The inulin of *A. tequilana* and *L. casei* increased the concentration of probiotic bacteria in the digestive tube and the cells of the immune system and decreased the incidence of diarrhea without affecting DMC and DWG of the lambs.

* Autor responsable ♦ Author for correspondence.

Recibido: marzo, 2018. Aprobado: junio, 2018.

Publicado como ARTÍCULO en *Agrociencia* 53: 303-317. 2019.

y *L. casei* aumentaron la concentración de bacterias probióticas en el tubo digestivo y las células del sistema inmune y disminuyeron la incidencia de diarreas sin afectar el CMS y la GDP de los corderos.

Palabras clave: inulina, diarreas, lactobacilos, coliformes, heces, antibióticos.

INTRODUCCIÓN

La mortalidad de los corderos después del destete es una pérdida económica, y según Freitas y Ungerfeld (2016) el destete es un período crítico en la vida de los corderos. En ese tiempo inicia el establecimiento de la población microbiana ruminal; el cambio de dieta líquida a sólida desencadena problemas digestivos, como diarreas, que disminuyen la respuesta productiva o causan la muerte en los corderos (Malmuthuge *et al.*, 2015). Las diarreas se tratan con antimicrobianos, como quinolonas, tetraciclinas, aminoglucósidos, sulfonamidas, macrólidos; sin embargo, generan resistencia bacteriana, su uso está prohibido (Maron *et al.*, 2013; Economou y Gousia, 2015), y se buscan aditivos alimenticios para optimizar la alimentación, mejorar la salud y el rendimiento de los rumiantes. Los probióticos (Khalid *et al.*, 2011) y prebióticos, como la inulina (Samanta *et al.*, 2013), son opciones para la nutrición de rumiantes pequeños. Los probióticos mejoran la población microbiana ruminal, la degradación de nutrientes, la conversión alimenticia y el sistema inmunológico (Abd El-Tawab *et al.*, 2016); además, ejercen una acción antagonista a enteropatógenos (Musa *et al.*, 2009). Los prebióticos reducen el nitrógeno amoniacal y aumentan la síntesis de proteína microbiana en el rumen (Uyeno *et al.*, 2015), modulan la microflora intestinal (Samanta *et al.*, 2012) y reducen el colesterol (Yoo y Kim, 2016), lo cual conduce a una mejor productividad y salud de los corderos.

La inulina de achicoria (*Cichorium intybus*) y alcachofa (*Helianthus tuberosus*) se ha usado en terneros (Uyeno *et al.*, 2015), pero las investigaciones son escasas y controversiales en pequeños rumiantes (Kara *et al.*, 2012; Kazemi-Bonchenari *et al.*, 2013). En México, la inulina se obtiene de especies de la familia *Agavaceae* (Carranza *et al.*, 2015) y en la literatura revisada no se encontró información sobre su uso en corderos. Las investigaciones con inulina de agave se centran en estudios *in vitro* (Moreno-Vilet

Key words: Inulin, diarrhea, lactobacilli, coliforms, feces, antibiotics.

INTRODUCTION

Mortality of lambs after weaning is an economic loss, and according to Freitas and Ungerfeld (2016), weaning is a critical period in the life of lambs. The establishment of the microbial population begins at this time; the change of liquid to solid diet provokes digestive problems, such as diarrhea, which diminish the productive response or cause death in lambs (Malmuthuge *et al.*, 2015). Diarrhea are treated with antibiotics, such as quinolones, tetracyclines, aminoglycosides, sulfonamides, and macrolides; however, they generate bacterial resistance and their use is prohibited (Maron *et al.*, 2013; Economou and Gousia, 2015), and food additives are sought to optimize feeding, improve health and yield of the ruminants. The probiotics (Khalid *et al.*, 2011) and prebiotics, such as inulin (Samana *et al.*, 2013), are options for the nutrition of small ruminants. Probiotics improve the ruminal microbial population, nutrient degradation, feed conversion and the immunological system (Abd El-Tawab *et al.*, 2016); furthermore, they exert an antagonistic action to enteropathogens (Musa *et al.*, 2009). Prebiotics reduce ammoniacal nitrogen and increase the synthesis of microbial protein in rumen (Uyeno *et al.*, 2015), modulate the intestinal microflora (Samanta *et al.*, 2012) and reduce cholesterol (Yoo and Kim, 2016), which leads to better productivity and health of the lambs.

Inulin of chicory (*Cichorium intybus*) and artichoke (*Helianthus tuberosus*) has been used in calves (Uyeno *et al.*, 2015), but investigations are scarce and controversial in small ruminants (Kara *et al.*, 2012; Kazemi-Bonchenari *et al.*, 2013). In Mexico, inulin is obtained from species of the family *Agavaceae* (Carranza *et al.*, 2015) and in the revised literature no information was found of its use in lambs. The investigations with agave inulin are focused on studies *in vitro* (Morreno-Vilet *et al.*, 2016) and *in vivo* (Alvarado-Loza *et al.*, 2009; Márquez-Aguirre *et al.*, 2016) with laboratory animals. Therefore, the objective of this study was to evaluate *in vivo* the effect of agave inulin (*Agave tequilana*) and *Lactobacillus casei* on growth, blood metabolites, hematological and ruminal variables in weaned lambs.

et al., 2016) e *in vivo* (Alvarado-Loza *et al.*, 2009; Márquez-Aguirre *et al.*, 2016) con animales de laboratorio. Así, el objetivo de este estudio fue evaluar *in vivo* el efecto prebiótico de la inulina de agave (*Agave tequilana*) y *Lactobacillus casei* en el crecimiento, metabolitos sanguíneos, variables hematológicas y ruminales en corderos destetados.

MATERIALES Y MÉTODOS

Localización

La investigación se realizó en la Granja Experimental y en el Laboratorio de Nutrición Animal del Postgrado de Ganadería en el Colegio de Posgraduados, Montecillo, Estado de México (19° 27' 38" N, 98° 54' 11" O, 2250 msnm). El clima de la región es templado sub-húmedo con lluvias en verano, precipitación pluvial y temperatura media anual de 663.7 mm y 15.8 °C (EAM, 2016).

Animales y manejo

Treinta corderos machos recién destetados (Katadhin x Dorset 20.6 ± 0.2 kg PV), de 75 d de edad, recibieron un tratamiento profiláctico con antiparasitario (Closantil® 5 %, Closantel, 10 mg kg⁻¹ PV) y bacterina (Bobact® 8, 2.0 mL cordero⁻¹) y se alojaron en jaulas metabólicas individuales con comedero y bebedero. Para el manejo de los corderos se aplicó el "Reglamento para el uso y cuidado de animales destinados a la Investigación en el Colegio de Postgraduados 02.11.16".

Tratamientos

La dieta se formuló con los requerimientos nutricionales para corderos en finalización, con 1.23 Mcal ENg kg⁻¹ MS, para una ganancia de 300 g d⁻¹ (NRC, 2007). Los tratamientos (T) fueron T1: testigo (dieta base); T2: T1 + 2 % inulina; y T3: T1 + 2 % inulina + *L. casei* (60 mL cordero⁻¹ d⁻¹). La fuente de inulina fue Inulin Powder® (Bestground, Zapopan, Jalisco), al 2 % del consumo diario de materia seca (MS), y la cepa probiótica fue *L. casei* (Yakult® con 10⁸ UFC mL⁻¹, México).

La composición química de las dietas (Cuadro 1) se determinó con los métodos de AOAC (2005): MS (método 930.15), cenizas (método 942.05), proteína cruda (PC; método 984.13) y extracto etéreo (EE; método 954.02). La fibra detergente neutro (FDN) y fibra detergente ácido (FDA) se evaluaron en el analizador ANKOM (Ankom Technology Corp. A200, Fairport, NY, USA).

MATERIALS AND METHODS

Location

This research was carried out at the Experimental Farm and in the Animal Nutrition Laboratory of the Livestock Graduate program in the Colegio de Postgraduados, Montecillo, Estado de Mexico (19° 27' 38" N, 98° 54' 11" W, 2250 masl). The climate of the region is sub-humid temperate with rains in summer, mean annual rainfall and temperature of 663.7 mm and 15.8 °C (EAM, 2016).

Animals and management

Thirty recently weaned male lambs (Katadhin x Dorset 20.6 ± 0.2 kg LW), of 75 d of age, received a prophylactic treatment with parasiticide (Closantil® 5 %, Closentel, 10 mg kg⁻¹ LW) and antibiotic (Bobact® 8, 2.0 mL lamb⁻¹) and were maintained in individual metabolic cages with feed tray and water dispenser. For management of the lambs, the "Norms for the use and care of animals destined for Research in the Colegio de Postgraduados 02.11.16" was applied.

Treatments

The diet was formulated with the nutritional requirements for finishing lambs, with 1.23 Mcal ENg kg⁻¹ DM, for a weight gain of 300 g d⁻¹ (NRC, 2007). The treatments (T) were T1: control (base diet); T2: T1 + 2 % inulin; and T3: T1 + 2 % inulin + *L. casei* (60 mL lamb⁻¹ d⁻¹). The source of inulin was Inulin Powder® (Bestground, Zapopan, Jalisco), at 2 % of the daily dry matter (DM) intake, and the probiotic strain was *L. casei* (Yakult® with 10⁸ UFC mL⁻¹, Mexico).

The chemical composition of the diets (Table 1) was determined with the methods of AOAC (2005): DM (method 930.15), ash (method 942.05), crude protein (CP; method 984.13) and ether extract (EE, method 954.02). The neutral detergent fiber (NDF) and acid detergent fiber (ADF) were evaluated in the ANKOM analyzer (Ankom Technology Corp. A200, Fairport, NY, USA).

Productive variables

The lambs were adapted to the diets (Table 1) during 12 d and the evaluation lasted 60 d. The feed was offered at 08:00 and 16:00 and the water *ad libitum*. The probiotic was administered with a syringe with a cannula and the inulin was mixed in the feed, both during the morning feeding.

Variables productivas

Los corderos se adaptaron a las dietas (Cuadro 1) durante 12 d y el tiempo de evaluación fue 60 d. El alimento se ofreció a las 08:00 y 16:00 y el agua *ad libitum*. El probiótico se administró vía oral con una jeringa con cánula y la inulina se mezcló en el alimento, ambos durante la alimentación matutina.

El consumo de MS (CMS, kg d⁻¹) se calculó por diferencia entre el alimento ofrecido y rechazado cada día; la ganancia diaria de peso (GDP, g d⁻¹) se determinó mediante el pesaje de los corderos al inicio del experimento y cada 15 d (07:00) y se obtuvo el peso promedio de tres días sucesivos; la conversión alimenticia (CA) se calculó como la relación CMS/GDP.

Consistencia en heces

La consistencia de las heces se calificó visualmente (10:00) en cada cordero, durante el periodo experimental, y se calificó con la escala adaptada del método reportado por Le Jambre *et al.* (2007) (Figura 1).

Recuento bacteriano en heces (UFC g⁻¹)

Muestras de heces (10 g por cordero) se obtuvieron por estimulación rectal a las 07:00 el día final del experimento, se depositaron en vasos recolectores estériles y mantuvieron a 4 °C. De cada muestra se colocó 1 g en un tubo Labcon con 9 mL de solución peptonada (8.5 %), se homogeneizó, y se prepararon diluciones seriadas de 10⁻¹ a 10⁻¹². De cada dilución se sembraron, por triplicado, 100 µL por el método de estriado en cajas Petri con agar Mac Conkey (coliformes totales) y MRS (lactobacilos). Las cajas Petri se mantuvieron a 37 °C por 24 o 48 h. Las unidades formadoras de colonias (UFC) se contabilizaron y los datos se expresaron con la función logaritmo base 10 (log₁₀ UFC g⁻¹).

Cuadro 1. Ingredientes y composición química de las dietas experimentales.

Table 1. Ingredients and chemical composition of the experimental diets.

Ingredientes (%)	T1	T2	T3
Maíz rolado	60	60	60
Pasta de soya	15	15	15
Heno de avena	10	10	10
Heno de alfalfa	10	10	10
Melaza	3	3	3
Aceite de soya	1	1	1
Minerales [†]	1	1	1
Composición química (%)			
Materia seca	95.94	95.94	95.94
Proteína cruda	15.66	15.66	15.66
Fibra detergente neutro	16.99	16.99	16.99
Fibra detergente ácido	7.90	7.90	7.90
Cenizas	5.19	5.19	5.19
Extracto etéreo	2.55	2.55	2.55

T1: testigo (dieta base), T2: T1+2 % inulina, T3: T1+2 % inulina + *L. casei*. [†]Superbayphos® cada 100 g contiene: P 10 %; Ca 12 %; Fe 0.5 %; Mg 0.1 %; Cu 0.15 %; Zn 0.12 %; Mn 0.055 %; Co 0.05 %; I 0.02 %; Se 200 ppb; Vitamina A 50 000 UI ♦ T1: control (base diet); T2: T1 + 2 % inulin; T3: T1 + 2 % inulin + *L. casei*. [†]Superbayphos® every 100 g contains: P 10 %; Ca 12 %; Fe 0.5 %; Mg 0.1 %; Cu 0.15 %; Zn 0.12 %; Mn 0.055 %; Co 0.05 %; I 0.02 %; Se 200 ppb; Vitamin A 30 000 UI.

The consumption of DM (DMC, kg d⁻¹) was calculated by the difference between the feed offered and refused each day; daily weight gain (DWG, g d⁻¹) was determined by weighing the lambs at the start of the experiment and every 15 d (07:00) and the average weight of three successive days was obtained; feed conversion (FC) was calculated as the ratio DMC / DWG.

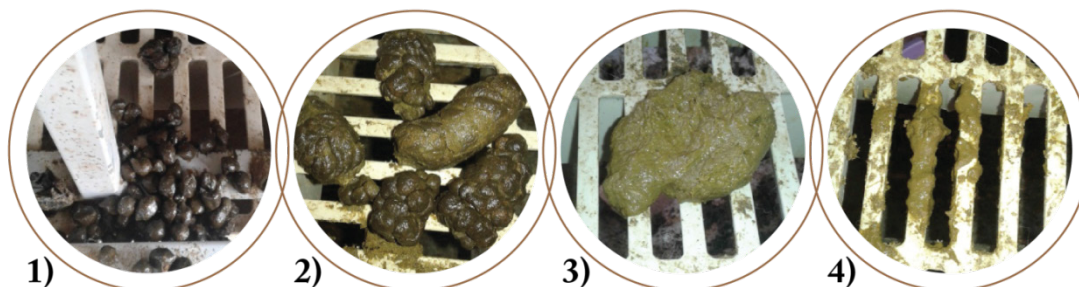


Figura 1. Escala de evaluación de la consistencia de heces: 1 = Normal (pellets), 2 = Pellets comprimidos y pegajosos, 3 = Pastosas (suaves), y 4 = Acuosa (líquida). Escala adaptada del método reportado por Le Jambre *et al.* (2007).

Figure 1. Evaluation scale of consistency in feces: 1 = Normal (pellets), 2 = Compressed and sticky pellets, 3 = Pasty (soft), and 4 = Watery (liquid). Scale adapted from the method reported by Le Jambre *et al.* (2007).

Esta fase se realizó en una campana con flujo laminar (Labconco Logic A2, 800, USA) y el material fue esterilizado en autoclave (Lab-Med, LMV40, México) a 121 °C y 15 psi por 15 min.

Variables hematológicas

En 5 mL de sangre recolectados al final del estudio y antes de la alimentación matutina se determinaron las variables hematológicas y la concentración de metabolitos sanguíneos. Las muestras se obtuvieron por venopunción de la vena yugular, en un tubo con anticoagulante (BD Vacutainer® K2 EDTA). Otros 5 mL de sangre se depositaron en un tubo (BD Vacutainer®) sin anticoagulante para separar el suero (una muestra por cordero en las diez unidades experimentales de cada tratamiento). Las muestras se mantuvieron a 4 °C y se trasladaron al laboratorio para determinar eritrocitos, hematocrito y plaquetas (tecnología de corriente directa y enfoque hidrodinámico), hemoglobina (lauril sulfato de sodio libre de cianuro) y serie leucocitaria (citometría de flujo fluorescente) con un analizador hematológico automatizado (Sysmex, XS-1000i™, Japón).

Metabolitos sanguíneos

Las muestras sin anticoagulante se centrifugaron (Centrifuga Sigma, 2-16k, Alemania) a 3500 x g por 20 min; el suero se almacenó en tubos Eppendorf a -20 °C hasta su análisis. La concentración de colesterol total (método enzimático oxidasa-peroxidasa a 505 nm), glucosa (método enzimático a 505 nm), proteína total (método biuret a 540 nm) y albúmina (método verde bromocresol a 630 nm) se determinaron con kits comerciales Spinreact® (Barcelona, España) en un espectrofotómetro de luz UV visible (Cary 1- E Varian, USA). La concentración de globulinas se calculó por diferencia entre la proteína total y albúmina (Russell y Roussel, 2007).

Variables ruminales

Al final del estudio y 3 h después de la alimentación se extrajeron 50 mL de fluido ruminal con una sonda vía esofágica. Las muestras se filtraron a través de una capa doble de gasas y se determinó su pH con un potenciómetro (Thermo Scientific Star, A121, USA). En un tubo Labcon se mantuvieron 4 mL con 1 mL de ácido metafosfórico al 25 % (v/v), y se conservaron a -20 °C hasta su análisis. La concentración de ácidos grasos volátiles (AGV) se determinó en un cromatógrafo de gases (HP 6890, USA) con columna capilar HP-FFAP 19091F-433 (Agilent, USA) de 30 m x 0.25 mm, N₂ como gas acarreador, H₂ y aire (flujo de 33 y 330 mL min⁻¹) y como caudal de gas auxiliar (14 mL min⁻¹). La temperatura del inyector y detector fueron

Consistency in feces

Consistency in feces was visually qualified (10:00) in each lamb, during the experimental period, and was qualified with the scale adapted from the method reported by Le Jambre *et al.* (2007) (Figure 1).

Bacteria count in feces (UFC g⁻¹)

Fecal samples (10 g per lambs) were obtained by rectal stimulation at 07:00 during the final day of the experiment, placed in sterile collector glasses and maintained at 4 °C. From each sample 1 g was placed in a Labcon tube with 9 mL of peptone solution (8.5 %), it was homogenized and serial dilutions from 10⁻¹ to 10⁻¹² were prepared. From each dilution 100 mL, per triplicate, were sown with the striated method in Petri dishes with Mac Conkey agar (total coliforms) and MRS (lactobacilli). The Petri dishes were maintained at 37 °C for 24 or 48 h. The colony forming units (CFU) were counted and data were expressed with the base 10 logarithm function (log₁₀ CFU g⁻¹). This phase was performed in a laminar flow hood (Labconco Logic A2, 800, USA) and the material was sterilized in an autoclave (Lab-Med, LMV40, México) at 121 °C and 15psi for 15 min.

Hematological variables

In 5 mL of blood collected at the end of the study and prior to morning feeding, hematological variables were determined along with the concentration of blood metabolites. The samples were obtained by venipuncture of the jugular vein, in a tube with anticoagulant (BD Vacutainer® K2 EDTA). An additional 5 mL of blood were deposited in a tube (BD Vacutainer®) without anticoagulant to separate the serum (one sample per lamb in the ten experimental units of each treatment). The samples were maintained at 4 °C and were taken to the laboratory to determine erythrocytes, hematocrit and platelets (technology of direct current and hydrodynamic focus), hemoglobin (laurel sodium sulfate free of cyanide) and leukocyte series (florescence flow cytometry) with an automated hematological analyzer (Sysmex, XS-1000i™, Japan).

Blood metabolites

The samples without anticoagulant were centrifuged (Centrifuga Sigma, 2-16k, Germany) at 3500 x g for 20 min; the serum was stored in Eppendorf tubes at -20 °C until its analysis. The total cholesterol concentration (oxidase-peroxidase enzymatic method at 505 nm), total protein (biuret method at 540 nm) and albumin (bromocresol green method at 630 nm)

230 y 240 °C. Las condiciones del horno fueron: rampa 1 (65 °C min⁻¹, 95 °C y 0.15 min) y rampa 2 (15 °C min⁻¹, 145 °C por 6 min) con tiempo total de 9.94 min. El N amoniacal se determinó con el método descrito por McCullough (1967).

Diseño experimental y análisis estadístico

El diseño experimental fue completamente al azar con tres tratamientos y 10 repeticiones. Los datos se analizaron con PROC GLM (SAS Institute, Inc., 2012) y los promedios de los tratamientos se compararon con la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$). La consistencia en heces se analizó con la prueba Chi cuadrada y el recuento de microorganismos mediante la función \log_{10} .

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

VARIABLES PRODUCTIVAS

La inulina en la dieta concentrada, sola o con *L. casei* no afectó ($p > 0.05$) CMS, GDP ni CA en los corderos (Cuadro 2). La inulina de achicoria y *E. faecium* en la dieta tampoco modificaron la GDP y el CMS de corderos en crecimiento (Kazemi-Bonchenari *et al.*, 2013). En contraste, cepas probióticas incrementaron 21.4, 15.5 y 16 % la GDP (Abdel-Salam *et al.*, 2014; El-Katcha *et al.*, 2016; El-Mehanna *et al.*, 2017), y el CMS (Desnoyers *et al.*, 2009) en corderos.

En corderos, la variación en la respuesta al uso de probióticos depende del tipo de organismo, la

were determined with commercial kits Spinreact® (Barcelona, Spain) in a visible UV light spectrophotometer (Cary 1- E Varian, USA). The concentration of globulins was calculated by the difference between total protein and albumin (Russell and Rousel, 2007).

Ruminal variables

At the end of the study and 3 h after feeding, 50 mL of ruminal fluid were extracted with a probe by way of the esophagus. The samples were filtered through a double layer of gauze and their pH was determined with a potentiometer (Thermo Scientific Star, A121, USA). In a Labcon tube, 4 mL were maintained with 1 mL of metaphosphoric acid at 25 % (v/v), and conserved at -20 °C until their analysis. The concentration of volatile fatty acids (VFA) was determined with a gas chromatograph (HP 6890, USA) with capillary column HP-FFAP 19091F-433 (Agilent, USA) of 30 m x 0.25 mm, N₂ as gas carrier, H₂ and air (flow of 33 and 330 mL min⁻¹) and as auxiliary gas flow (14 mL min⁻¹). The temperature of the injector and detector were 230 and 240 °C. The oven conditions were: ramp 1 (65 °C min⁻¹, 95 °C and 0.15 min) and ramp 2 (15 °C min⁻¹, 145 °C for 6 min) with total time of 9.94 min. The ammoniacal N was determined with the method described by McCullough (1967).

Experimental design and statistical analysis

The experimental design was completely randomized with three treatments and 10 replications. The data were analyzed with PROC GLM (SAS Institute Inc., 2012) and the averages

Cuadro 2. Peso, consumo de materia seca (CMS), ganancia de peso (GDP) y conversión alimenticia (CA) de corderos destetados alimentados con una dieta concentrada complementada con inulina de agave y *Lactobacillus casei*†.

Table 2. Weight, dry matter intake (DMI), weight gain (DWG) and feed conversion (FC) of weaned lambs fed with a concentrated diet complemented with inulin of agave and *Lactobacillus casei*†.

Variable	T1	T2	T3	EEM
Peso inicial (kg)	20.5	20.8	20.5	0.61
Peso final (kg)	38.4	38.5	38.1	0.93
CMS (kg d ⁻¹)	1.09	1.07	1.03	0.01
GDP (g d ⁻¹)	286	289	286	0.02
CA	4.05	4.06	3.83	0.15

T1: testigo (dieta base), T2: T1+2 % inulina, T3: T+2 % inulina + *L. casei*. EEM: error estándar del valor promedio. †*Lactobacillus casei* (Yakult®, México) ❖ T1: control (base diet), T2: T1+2 % inulin, T3: T + 2 % inulin + *L. casei*. EEM: standard error of the average value. †*Lactobacillus casei* (Yakult®, Mexico).

dosis, el tiempo de inclusión, la edad de los corderos y la capacidad del probiótico para adaptarse a las condiciones del tubo digestivo y competir con otros microorganismos (Mukhtar *et al.*, 2010; Khalid *et al.*, 2011). Los probióticos que ejercen efecto en el rumen favorecen la degradación de nutrientes y el aumento del consumo de MS (Desnoyers *et al.*, 2009). Los géneros *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Enterococcus* y *Bacillus* son probióticos usados para colonizar regiones del tubo digestivo posterior con el objetivo de estabilizar la flora microbiana, mejorar el aprovechamiento de nutrientes y reducir enteropatógenos, asociados para mejorar el aprovechamiento de nutrientes (Gaggia *et al.*, 2010). En contraste, en el presente estudio *L. casei* no afectó el consumo de MS ni la ganancia de peso en los corderos.

Inulina y *L. casei* no afectaron la CA (4.0), pero en otros estudios con inulina y probióticos (Kazemi-Bonchenari *et al.*, 2013; Hossein-Ali *et al.*, 2014; Saleem *et al.*, 2017) se obtuvieron valores de CA superiores (8.3, 7.4 y 9.5) a los de nuestra investigación. Las diferencias pueden deberse a cambios en la digestibilidad ruminal de los nutrientes y el suministro en el intestino delgado (Chaucheyras-Durand *et al.*, 2008; Uyeno *et al.*, 2015), características del animal, tipo de dieta, prebiótico y probiótico (Mousa *et al.*, 2012). Además, factores ambientales y de manejo también afectan la respuesta animal (Vlková *et al.*, 2009).

Recuento microbiano y consistencia en heces

El T3 modificó ($p \leq 0.05$) la población de coliformes totales y lactobacilos en heces (Cuadro 3), y el conteo de coliformes fue mayor ($p \leq 0.05$) en el grupo testigo respecto a los demás tratamientos. La población de lactobacilos aumentó ($p \leq 0.05$) en el grupo con *L. casei* e inulina, lo cual se relacionó con la disminución de los coliformes totales y mostró que *L. casei* coloniza el tubo digestivo y tiene un efecto probiótico.

Los resultados del presente estudio son acordes con los de otros autores que incluyeron inulina y *E. faecium* en la dieta; ambos disminuyeron la población de enterobacterias y aumentaron la de lactobacilos (Moarrab *et al.*, 2016). En contraste, Kara *et al.* (2012) observaron cambios en la reducción de coliformes totales debido a la inulina. La inulina favorece el desarrollo de ciertos microorganismos que

of the treatments were compared with the Tukey test ($p \leq 0.05$). Consistency of feces was analyzed with the Chi squared test and the count of microorganisms through the function \log_{10} .

RESULTS AND DISCUSSION

Productive variables

The inulin in the concentrated diet, alone or with *L. casei* did not affect ($p > 0.05$) DMC, DWG nor FC in the lambs (Table 2). The inulin of chicory and *E. faecium* in the diet also did not modify the DWG and the DMC of growing lambs (Kazemi-Bonchenari *et al.*, 2013). In contrast, probiotic strains increased the DWG (Abdel-Salam *et al.*, 2014; El Katcha *et al.*, 2016; El-Mehanna *et al.*, 2017), and the CDM (Desnoyers *et al.*, 2009) by 21.4, 15.5 and 16 % in lambs.

In lambs, the variation in the response to probiotics utilization depends on the type of organism, the dose, the time of inclusion, the age of the lambs and the capacity of the probiotic to adapt to the conditions of the digestive tube and compete with other microorganisms (Mukhtar *et al.*, 2010; Khalud *et al.*, 2011). The probiotics that exert an effect on the rumen favor the degradation of nutrients and the increase of the consumption of DM (Desnoyers *et al.*, 2009). The genera *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Enterococcus* and *Bacillus* are probiotics used to colonize regions of the posterior digestive tube with the objective of stabilizing the microbial flora, improving the use of nutrients and reducing enteropathogens, associated to improve the use of nutrients (Gaggia *et al.*, 2010). In contrast, in the present study *L. casei* did not affect consumption of DM nor weight gain in the lambs.

Inulin and *L. casei* did not affect the FC (4.0), but in other studies with inulin and probiotics (Kazemi-Bonchenari *et al.*, 2013; Hossein-Ali *et al.*, 2014; Saleem *et al.*, 2017) higher values of FC were obtained (8.3, 7.4 and 9.5) than those of our research. The differences may be due to changes in the ruminal digestibility of the nutrients and the supply in the small intestine (Chaucheyras-Durand *et al.*, 2008; Uyeno *et al.*, 2015), characteristics of the animal, type of diet, prebiotic and probiotic (Mousa *et al.*, 2012). Furthermore, environmental factors and management also affect the animal response (Vlková *et al.*, 2009).

Cuadro 3. Recuento de coliformes totales y lactobacilos en heces de corderos destetados alimentados con una dieta concentrada complementada con inulina de agave y *Lactobacillus casei*†.

Table 3. Count of total coliforms and lactobacilli in feces of weaned lambs fed with a concentrated diet complemented with inulin of agave and *Lactobacillus casei*†.

Variable	T1	T2	T3	EEM
Coliformes totales (Log ₁₀ UFC g ⁻¹)	8.58a	7.19b	6.51b	0.29
Lactobacilos (Log ₁₀ UFC g ⁻¹)	9.02b	9.88a	10.26a	0.20

T1: testigo (dieta base), T2: T1+2 % inulina, T3: T1+2 % inulina + *L. casei*. EEM: error estándar del valor promedio. a, b: Medias con distinta letra en una hilera son diferentes (Tukey; p≤0.05). †*Lactobacillus casei* (Yakult®, México) ♦ T1: control (base diet), T2: T1 + 2 % inulin, T3: T1 + 2 % inulin + *L. casei*. EEM: standard error of the average value. ^{ab}Means with different letter in a row are different (Tukey; p≤0.05). †*Lactobacillus casei* (Yakult®, Mexico).

incrementan la absorción de nutrientes en las vellosidades intestinales (Moarrab *et al.*, 2016), e inhiben el crecimiento de enteropatógenos con la producción de bacteriocinas (Dicks y Botes 2010), ácidos orgánicos, peróxido de hidrógeno y disminución del pH intestinal (Pringsulaka *et al.*, 2015). Esto permite explicar la reducción de coliformes totales con el aporte de inulina sola (T2) o en combinación con *L. casei* (T3).

Los corderos alimentados con *L. casei* e inulina tuvieron un porcentaje mayor de heces en pellets (73.32 y 83.46 %, T2 y T3), comparados con los del grupo testigo (65.42 %) (Cuadro 4). Esta consistencia

Microbial count and consistency in feces

T3 modified (p≤0.05) the population of total coliforms and lactobacilli in feces (Table 3), and the coliform count was higher (p≤0.05) in the control group with respect to the other treatments. The population of lactobacilli increased (p≤0.05) in the group with *L. casei* and inulin, which was related to the decrease of the total coliforms and showed that *L. casei* colonizes the digestive tube and has a probiotic effect.

The results of the present study agree with those of other authors that included inulin and *E.*

Cuadro 4. Consistencia en heces (%) de corderos destetados alimentados con una dieta concentrada complementada con inulina de agave y *Lactobacillus casei*†.

Table 4. Consistency in feces (%) of weaned lambs fed with a concentrated diet complemented with inulin of agave and *Lactobacillus casei*†.

Tratamientos (T)	1	2	3	4
T1	65.42	24.14	6.41	4.03
T2	73.32	19.67	5.22	1.79
T3	83.46	12.22	2.68	1.64
p [‡]	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001

T1: testigo (dieta base), T2: T1+2 % inulina, T3: T1+2 % inulina + *L. casei*. 1= Normal (pellets), 2 = Pellets comprimidos y pegajosos, 3 = Pastosas (suaves) y 4 = Acuosas (líquidas). †*Lactobacillus casei* (Yakult®, México). [‡]Chi-cuadrada, p= 0.0001 ♦ T1: control (base diet), T2: T1 + 2 % inulin, T3: T1 + 2 % inulin + *L. casei*. 1 = Normal (pellets), 2 = Compressed and sticky pellets, 3 = Pasty (soft) and 4 = Watery (liquid). †*Lactobacillus casei* (Yakult®, Mexico). [‡]Chi-squared, p = 0.0001.

en las heces se relaciona con la digestión y absorción de nutrientes y por la disminución de enterobacterias, lo cual mejora la asimilación de nutrientes generada por los lactobacilos (Zhao y Kim, 2015).

La inulina se clasifica como fibra de los alimentos y contribuye a mejorar la consistencia de las heces (Król, 2011), lo cual ocurrió en los corderos del T2 y T3. Las características de las heces son indicadores de presencia de diarreas y su gravedad en determinado momento; es posible que las heces pastosas y líquidas, en particular en el período posterior al destete, en los corderos se debieran al cambio y composición de la dieta, lo cual generó diarrea mecánica (Yang *et al.*, 2015). La consistencia normal de las heces en los corderos en T2 y T3 se relacionó con la disminución de coliformes totales e incremento de lactobacilos (Cuadro 3), y se debe al efecto prebiótico de la inulina (Moarrab *et al.*, 2016) y la acción probiótica de *L. casei* que inhibe el crecimiento de enteropatógenos (Musa *et al.*, 2009) y disminuye la incidencia de diarreas (Dowarah *et al.*, 2017).

Variables hematológicas

Las variables hematológicas no fueron diferentes entre tratamientos ($p > 0.05$), excepto basófilos, con un porcentaje superior ($p \leq 0.05$) en T3, respecto al grupo testigo (Cuadro 5).

Los resultados del presente estudio están en el intervalo fisiológico señalado en la literatura para los ovinos (Kaneko *et al.*, 2008) y que permite identificar deficiencia de nutrientes, estado fisiológico y salud de los corderos (NseAbasi *et al.*, 2014). Los datos de componentes hematológicos de corderos en la literatura son variables. Algunos estudios indicaron incrementos en hemoglobina, hematocrito, eritrocitos y leucocitos (Hosseini-Ali *et al.*, 2014; Hussein, 2014; El-Mehanna *et al.*, 2017) con el uso de probióticos; pero otros no mostraron cambios en variables hematológicas al incluir inulina (Kara *et al.*, 2012; Kazemi-Bonchenari *et al.*, 2013).

La edad del animal, los factores ambientales, durante el procesamiento de la muestra, las características y el manejo del animal también afectan las variables hematológicas (Antunović *et al.*, 2012; Njidda *et al.*, 2014; Ashour *et al.*, 2015). La ausencia de efectos en las variables hematológicas puede deberse al estado sano de los corderos y porque la dieta cubrió los requerimientos nutricionales.

faecium in the diet; both decreased the population of enterobacteria and increased that of lactobacilli (Moarrab *et al.*, 2016). In contrast, Kara *et al.* (2012) did not observed changes in the reduction of total coliforms due to inulin. Inulin favors the development of certain microorganisms that increment the absorption of nutrients in the intestinal villi (Moarrab *et al.*, 2016), and inhibit the growth of enteropathogens with the production of bacteriocins (Dicks and Botes, 2010), organic acids, hydrogen peroxide and reduction of the intestinal pH (Pringsulaka *et al.*, 2015). This makes it possible to explain the decrease of total coliforms with the supply of just inulin (T2) or in combination with *L. casei* (T3).

The lambs fed with *L. casei* and inulin had a higher percentage of feces in pellets (73.32 and 83.46 %, T2 and T3), compared with those of the control group (65.42 %) (Table 4). This consistency in feces is related to the digestion and absorption of nutrients and the decrease of enterobacteria, which improves the assimilation of nutrients generated by the lactobacilli (Zhao and Kim, 2015).

Inulin is classified as food fiber and contributes to improving the consistency of feces (Król, 2011), which occurred in the lambs of T2 and T3. The characteristics of the feces are indicators of the presence of diarrhea and their intensity at a determined time; it is possible that the pasty and liquid feces, in particular in the period after weaning in the lambs, was due to the change and composition of the diet, which generated mechanical diarrhea (Yang *et al.*, 2015). The normal consistency of feces in lambs in T2 and T3 was related to the decrease of total coliforms and increment of lactobacilli (Table 3), and is due to the prebiotic effect of inulin (Moarrab *et al.*, 2016) and the probiotic action of *L. casei* that inhibits the growth of enteropathogens (Musa *et al.*, 2009) and decreases the incidence of diarrhea (Dowarah *et al.*, 2017).

Hematological variables

The hematological variables were not different among treatments ($p > 0.05$), except for basophils, with a higher percentage ($p \leq 0.05$) in T3, with respect to the control group (Table 5).

The results of the present study are in the physiological interval indicated in the literature for

Cuadro 5. Variables hematológicas de corderos destetados alimentados con una dieta concentrada complementada con inulina de agave y *Lactobacillus casei*[†].
Table 5. Hematological variables of weaned lambs fed with a concentrated diet complemented with inulin of agave and *Lactobacillus casei*[†].

Variable	T1	T2	T3	EEM
Eritrocitos (10 ⁶ mL ⁻¹)	6.80	6.64	6.63	0.39
Hemoglobina (g dL ⁻¹)	12.58	12.37	12.75	0.19
Hematocrito (%)	28.03	28.05	27.85	0.93
M.C.V. (fL)	43.59	43.80	42.69	1.58
M.H.C. (pg)	20.00	19.83	20.24	0.06
M.C.H.C. (g dL ⁻¹)	45.48	44.70	46.77	1.09
Plaquetas (mil μ L ⁻¹)	221.00	253.50	250.80	25.71
Leucocitos (10 ³ mL ⁻¹)	29.48	25.10	37.43	6.18
Linfocitos (%)	34.65	33.19	38.08	4.29
Monocitos (%)	7.61	6.18	7.33	1.04
Segmentados (%)	56.56	59.50	53.15	3.80
Basófilos (%)	0.17b	0.32ab	0.45a	0.08
Eosinófilos (%)	1.01	0.79	0.97	0.17

T1: testigo (dieta base), T2: T1+2 % inulina, T3: T1+2 % inulina + *L. casei*. M.C.V.: Volumen corpuscular medio, M.C.H.: Hemoglobina corpuscular media, M.C.H.C.: Concentración media de hemoglobina corpuscular. EEM: error estándar del valor promedio. a, b: Valores con distinta letra en una hilera son diferentes (Tukey; $p \leq 0.05$).
[†]*Lactobacillus casei* (Yakult®, México) ♦ T1: control (base diet), T2: T1 + 2 % inulin, T3: T1 + 2 % inulin + *L. casei*. M.C.V.: Mean corpuscular volume, M.C.H.: Mean corpuscular hemoglobin, M.C.H.C.: Mean concentration of corpuscular hemoglobin. EEM: standard error of the average value. A, b: Values with different letter in a row are different (Tukey; $p \leq 0.05$). [†]*Lactobacillus casei* (Yakult®, Mexico).

El aumento de basófilos en T3 también se observó en terneros alimentados con una mezcla de probióticos (Agazzi *et al.*, 2014) y se explica por la estimulación del sistema inmunológico por los prebióticos y probióticos (Gaggia *et al.*, 2010) a través de la producción de citocinas por los macrófagos para combatir infecciones (Dicks y Botes, 2010; Galapero *et al.*, 2015) y mejora en salud y rendimiento productivo (Allen *et al.*, 2013).

Metabolitos sanguíneos

Las concentraciones de metabolitos séricos (Cuadro 6) estuvieron en el intervalo normal para ovinos (Kaneko *et al.*, 2008) y sin diferencias ($p > 0.05$) en la concentración sérica de glucosa, proteína total, albúmina y globulina, pero con menos ($p \leq 0.05$) colesterol en los corderos en T3. Algunos autores observaron concentración mayor en proteína total, albúmina y globulinas al usar probióticos (Hillal *et al.*, 2011; Abdel-Salam *et al.*, 2014; Hussein, 2014);

sheep (Kaneko *et al.*, 2008) and which permits the identification of nutrient deficiency, physiological state and health of the lambs (NseAbasi *et al.*, 2014). The data of hematological components of lambs in the literature are variable. Some studies indicated increments in hemoglobin, hematocrit, erythrocytes and leucocytes (Hosseini-Ali *et al.*, 2014; Hussein, 2014; El-Mehanna *et al.*, 2017) with the use of probiotics; but others did not show changes in hematological variables by including inulin (Kara *et al.*, 2012; Kazemi-Bonchenari *et al.*, 2013).

The age of the animal, the environmental factors, during the processing of the sample, the characteristics and management of the animal also affect the hematological variables (Antunović *et al.*, 2012; Ashour *et al.*, 2015) (Njidda *et al.*, 2014). The absence of effects on the hematological variables may be due to the healthy state of the lambs and because the diet covered the nutritional requirements.

The increase of basophils in T3 was also observed in calves fed with a mixture of prebiotics and

Cuadro 6. Metabolitos sanguíneos en corderos destetados alimentados con una dieta concentrada complementada con inulina de agave y *Lactobacillus casei*[†].

Table 6. Blood metabolites in weaned lambs fed with a concentrated diet complemented with inulin of agave and *Lactobacillus casei*[†].

Variable	T1	T2	T3	EEM
Colesterol (mg dL ⁻¹)	69.54a	64.43b	62.36b	1.20
Glucosa (mg dL ⁻¹)	76.61	73.60	71.20	1.56
Proteína total (g dL ⁻¹)	6.11	6.18	6.30	0.79
Albumina (g dL ⁻¹)	3.04	2.79	2.93	0.07
Globulina (g dL ⁻¹)	3.07	3.38	3.36	0.10

T1: testigo (dieta base), T2: T1+2 % inulina, T3: T1+2 % inulina + *L. casei*. EEM: error estándar del valor promedio. a, b: Valores con distinta letra en una hilera son diferentes (Tukey, $p \leq 0.05$). [†]*Lactobacillus casei* (Yakult®, México) ♦ T1: control (base diet), T2: T1 + 2 % inulin, T3: T1 + 2 % inulin + *L. casei*. EEM: standard error of the average value. a, b: Values with different letter in a row are different (Tukey, $p \leq 0.05$). [†]*Lactobacillus casei* (Yakult®, Mexico).

en contraste, en otros estudios hubo disminución (Hosseini-Ali *et al.*, 2014) o ausencia de cambios (Kazemi-Bonchenari *et al.*, 2013; El-Katcha *et al.*, 2016; Saleem *et al.* 2017). No obstante, estos metabolitos permiten evaluar las condiciones nutricionales y metabólicas de los corderos (Kaneko *et al.*, 2008), los cuales estuvieron clínicamente sanos y sin patologías durante el presente experimento.

Los niveles séricos de colesterol en este estudio fueron 7 y 10 % menores en T2 y T3. Estos resultados son similares a los reportados por Santillo *et al.* (2012), Hossein-Ali *et al.* (2014) y Moarrab *et al.* (2016), al incluir un aditivo de cepas de los géneros *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* y *Enterococcus* e inulina en la dieta de corderos. Estos resultados se deben a la actividad de las bacterias ácido lácticas (BAL) que reducen la absorción de lípidos en el intestino por la desconjugación de los ácidos biliares (Anandharaj *et al.*, 2014; Yoo y Kim, 2016). El ácido propiónico aumenta por la fermentación por BAL e inhibición de la hidroximetilglutaril-CoA reductasa, que regula la síntesis de colesterol (Khiralla, 2015), su eliminación en heces aumenta y su concentración en sangre se reduce (El-Katcha *et al.*, 2016).

Variables ruminales

El T3 no afectó ($p > 0.05$) el pH ruminal, la concentración de nitrógeno amoniacal (NH₃-N) ni de ácidos grasos volátiles (acético, propiónico y butírico)

probiotics (Agazzi *et al.*, 2014) and it is explained by the stimulation of the immunological system brought by the prebiotics and probiotics (Gaggia *et al.*, 2010) through the production of cytokines by the macrophages to combat infections (Dicks and Botes, 2010; Galapero *et al.*, 2015) and improvement in health and productive yield (Allen *et al.*, 2013).

Blood metabolites

The concentrations of serum metabolites (Table 6) were in the normal interval for sheep (Kaneko *et al.*, 2008) and without differences ($p > 0.05$) in the serum concentration of glucose, total protein, albumin and globulin, but with less ($p \leq 0.05$) cholesterol in the lambs of T3. Some authors observed higher concentration in total protein, albumin and globulin by using probiotics (Hillal *et al.*, 2011; Abdel-Salam *et al.*, 2014; Hussein, 2014); in contrast, in other studies there was a decrease (Hosseini-Ali *et al.*, 2014) or absence of changes (Kazemi-Bonchenari *et al.*, 2013; El-Katcha *et al.*, 2016; Saleem *et al.*, 2017). However, these metabolites make it possible to evaluate the nutritional and metabolic conditions of the lambs (Kaneko *et al.*, 2008), which were clinically healthy and without pathologies during the present experiment.

The serum levels of cholesterol in this study were 7 and 10 % lower in T2 and T3. These results are similar to those reported by Santillo *et al.* (2012),

(Cuadro 7). El pH estuvo en el intervalo normal (6.0 a 7.0) de la microflora ruminal (Kolver y De Veth, 2002). La inulina se puede degradar en el rumen (Samanta *et al.*, 2012), dependiendo de su grado de polimerización (van de Wiele *et al.*, 2007; Paßlack *et al.*, 2012; Praznik *et al.*, 2013) y pH (Flickinger *et al.*, 2003); pero, la contribución de los metabolitos, producto de la hidrólisis de la inulina, no afectaron esta variable. Los probióticos estabilizan el pH (Lettat *et al.*, 2012), lo cual favorece el ambiente microbiano y disminuye la incidencia de acidosis ruminal.

El pH obtenido en este estudio fue similar al reportado por Soliman *et al.* (2016) con prebiótico y probiótico incluidos en la dieta de corderos. La concentración baja de nitrógeno amoniacal en el presente estudio se corresponde con la dieta usada y el uso de amoníaco por las bacterias ruminales, lo cual favorece la síntesis de proteína microbiana (Uyeno *et al.*, 2015); además, indica que la inulina o *L. casei* no afectaron estas variables.

CONCLUSIONES

La inulina de agave y *Lactobacillus casei* en la dieta de corderos destetados disminuyeron la incidencia de diarreas, mejoraron la salud intestinal y aumentaron la población de lactobacilos en el tubo digestivo posterior. Además, redujeron la concentración de coliformes totales en heces y el colesterol sérico.

Hosseini-Ali *et al.* (2014) and Moarrab *et al.* (2016), when including an additive of strains of the genera *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* and *Enterococcus* and inulin in the diet of lambs. These results are due to the activity of the lactic acid bacteria (LAB) which reduce the absorption of lipids in the intestine because of the deconjugation of the biliary acids (Anandharaj *et al.*, 2014; Yoo and Kim, 2016). The propionic acid increases due to the fermentation by LAB and inhibition of the hydroxymethylglutaryl-CoA reductase, which regulates the synthesis of cholesterol (Khiralla, 2015), its elimination in feces increases and its concentration in blood decreases (El-Katcha *et al.*, 2016).

Ruminal variables

T3 did not affect ($p>0.05$) the ruminal pH, the concentration of ammoniacal nitrogen ($\text{NH}_3\text{-N}$) nor of volatile fatty acids (acetic, propionic and butyric) (Table 7). The pH was in the normal interval (6.0 to 7.0) of the ruminal microflora (Kolver and De Veth, 2002). Inulin can be degraded in the rumen (Samanta *et al.*, 2012), depending on its degree of polymerization (van de Wiele *et al.*, 2007; Paßlack *et al.*, 2012; Praznik *et al.*, 2013) and pH (Flickinger *et al.*, 2003); however, the contribution of the metabolites, product of the hydrolysis of the inulin, did not affect this variable. The probiotics stabilize the

Cuadro 7. Variables ruminales de corderos destetados y alimentados con una dieta concentrada complementada con inulina de agave y *Lactobacillus casei*[†].

Table 7. Ruminal variables of weaned lambs and fed with a concentrated diet complemented with inulin of agave and *Lactobacillus casei*[†].

Variable	T1	T2	T3	EEM
pH	6.49	6.57	6.62	0.04
Nitrógeno amoniacal (mg dL ⁻¹)	10.81	9.16	9.86	0.60
Acetato (%)	57.32	55.61	55.73	1.38
Propionato (%)	24.28	27.23	26.80	1.48
Butirato (%)	11.35	9.99	10.70	1.05

T1: testigo (dieta base), T2: T1+2 % inulina, T3: T1+2 % inulina + *L. casei*. EEM: error estándar del valor promedio. [†]*Lactobacillus casei* (Yakult®, México)
[‡] T1: control (base diet), T2: T1 + 2 % inulin, T3: T1 + 2 % inulin + *L. casei*. EEM: standard error of the average value. [†]*Lactobacillus casei* (Yakult®, Mexico).

LITERATURA CITADA

- Abd El-Tawab, M. M., I. M. I. Youssef, H. A. Bakr, G. C. Fthenakis, and N. D. Giadinis. 2016. Role of probiotics in nutrition and health of small ruminants. *Pol. J. Vet. Sci.* 19: 893-906.
- Abdel-Salam, A. M., M. M. Zeitoun, and M. M. Abdelsalam. 2014. Effect of synbiotic supplementation on growth performance, blood metabolites, insulin and testosterone and wool traits of growing lambs. *J. Biol. Sci.* 14: 292-298.
- Agazzi, A., E. Tirloni, S. Stella, S. Marocco, B. Ripamonti, E. Bersani, J. M. Caputo, V. Dell'Orto, N. Rota, and G. Savoini. 2014. Effects of species-specific probiotic addition to milk replacer on calf health and performance during the first month of life. *Ann. Anim. Sci.* 14: 101-115.
- Allen, H. K., U. Y. Levine, T. Looft, M. Bandrick, and T. A. Casey. 2013. Treatment, promotion, commotion: Antibiotic alternatives in food-producing animals. *Trends. Microbiol.* 21: 114-119.
- Alvarado-Loza, E., J. R. Orozco-Hernández, I. J. Ruiz-García, F. J. Paredes-Ibarra, and V. O. Fuentes-Hernández. 2009. Level of agave inulin in the feed and the performance of rabbits. *Res. J. Biol. Sci.* 4: 1110-1112.
- Anandharaj, M., B. Sivasankari, and R. P. Rani. 2014. Effects of probiotics, prebiotics, and synbiotics on hypercholesterolemia: A review. *Chinese J. Biol.* 1-7.
- Antunović, Z., M. Šperanda, D. Senčić, J. Novoselec, Z. Steiner, and M. Djidara. 2012. Influence of age on some blood parameters of lambs in organic production. *Maced. J. Anim. Sci.* 2: 11-15.
- AOAC (Association of Official Analytical Chemists). 2005. Official methods of analysis, 18th edition AOAC, Washington, DC. USA. 176 p.
- Ashour, G., N. A. Ashmawy, S. M. Dessouki, and O. H. Shihab. 2015. Blood hematology, metabolites and hormones in newborn sheep and goat from birth to weaning. *Int. J. Adv. Res.* 3: 1377-1386.
- Carranza, O. C., A. Ávila, G. R. Bustillo, and A. López-Munúa. 2015. Processing of fructans and oligosaccharides from agave plants. *In: Preedy, R. V. (ed). Processing and Impact on Active Components in Food.* 1^a ed. Academic Press, USA. pp: 121-129.
- Chaucheyras-Durand, F., N. D. Walker, and A. Bach. 2008. Effects of active dry yeasts on the rumen microbial ecosystem: Past, present and future. *Anim. Feed Sci. Technol.* 145: 5-26.
- Desnoyers, M., S. Giger-Reverdin, G. Bertin, C. Duvaux-Ponter, and D. Sauvant. 2009. Meta-analysis of the influence of *Saccharomyces cerevisiae* supplementation on ruminal parameters and milk production of ruminants. *J. Dairy Sci.* 92: 1620-1632.
- Dicks, L. M. T., and M. Botes. 2010. Probiotic lactic acid bacteria in the gastro-intestinal tract: health benefits, safety and mode of action. *Benef. Microb.* 1: 11-29.
- Dowarah, R., A. K. Verma, and N. Agarwal. 2017. The use of *Lactobacillus* as an alternative of antibiotic growth promoters in pigs: A review. *Anim. Nutr.* 3:1-6.
- Economou, V., and P. Gousia. 2015. Agriculture and food animals as a source of antimicrobial-resistant bacteria. *Infect. Drug Resist.* 8: 49-61.
- EAM (Estación Agro-Meteorológica). 2016. Estación Automática Vantage Pro. Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo. <http://www.cm.colpos.mx/meteoro/index.htm> (Consulta: abril 2017).
- pH (Lettat *et al.*, 2012), which favors the microbial environment and decreases the incidence of ruminal acidosis.
- The pH obtained in this study was similar to that reported by Soliman *et al.* (2016) with prebiotic and probiotic included in the diet of lambs. The low concentration of ammoniacal nitrogen in the present study corresponds with the diet used and the use of ammonia by the ruminal bacteria, which favors the synthesis of microbial protein (Uyeno *et al.*, 2015); furthermore, it indicates that neither the inulin nor *L. casei* affected these variables.

CONCLUSIONS

The inulin of agave and *Lactobacillus casei* in the diet of weaned lambs decreased the incidence of diarrhea, improved intestinal health and increased the population of lactobacilli in the posterior digestive tube. In addition, it reduced the concentration of total coliforms in feces and serum cholesterol.

—End of the English version—



- El-Katcha, M. I., M. A. Soltan, and M. S. Essi. 2016. Effect of *Pediococcus* spp. supplementation on growth performance, nutrient digestibility and some blood serum biochemical changes of fattening lambs. *Alex. J. Vet. Sci.* 49: 44-54.
- El-Mehanna, S. F., M. M. Abdelsalam, N. M. Hashem, K. E. M. El-Azrak, M. M. Mansour, and M. M. Zeitoun. 2017. Relevance of probiotic, prebiotic and symbiotic supplementations on hemato-biochemical parameters, metabolic hormones, biometric measurements and carcass characteristics of sub-tropical Noemi. *IJAR* 1: 1-10.
- Erwin, E. S., G. J. Marco, and E. M. Emery. 1961. Volatile fatty acid analysis of blood and rumen fluid by gas chromatography. *J. Dairy Sci.* 44: 1768-1771.
- Flickinger, E. A., J. Van Loo, and G. C. Fahey. 2003. Nutritional responses to the presence of inulin and oligofructose in the diets of domesticated animals: A review. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 43: 19-60.
- Freitas, M. A., and R. Ungerfeld. 2016. Artificial weaning in sheep: stress response and animal welfare. *Review. Rev. Mex. Cienc. Pec.* 7: 361-375.
- Gaggià F., P. Mattarelli, and B. Biavati. 2010. Probiotics and prebiotics in animal feeding for safe food production. *Int. J. Food Microbiol.* 141: S15-S28.
- Galapero J., S. Fernández, C. J. Pérez, A. García-Sánchez, L. García-Sánchez, and L. Gómez. 2015. Valuation of immune response by using phagocytosis index and parameters associated as markers of animal stress in fattening lambs. *Small Ruminant Res.* 133: 58-61.

- Hillal H., G. El-Sayaad, and M. Abdella. 2011. Effect of growth promoters (probiotics) supplementation on performance, rumen activity and some blood constituents in growing lambs. *Arch. Tierz.* 54: 607-617.
- Hossein-Ali A., E. A. Mashhadi, M. Rezaeian, and M. Mohtasebi. 2014. Effects of *Bacillus subtilis* and *Bacillus licheniformis*-based probiotic on performance, hematological parameters and blood metabolites in lambs. *Int. J. Food Nutr. Sci.* 3: 8-15.
- Hussein A. F. 2014. Effect of biological additives on growth indices and physiological responses of weaned Nadj ram lambs. *J. Exp. Biol. Agr. Sci.* 2: 597-607.
- Kaneko J. J., J. W. Harvey, and M. L. Bruss. 2008. *Clinical biochemistry of domestic animals*. 6^a ed. Academic Press, USA. 904 p.
- Kara C., A. Orman, H. Gencoglu, A. Kovanlikaya, Y. Meral, I. Cetin, A. Yibar, S. Kasap, I. Turkmen, and G. Deniz. 2012. Effects of inulin supplementation on selected faecal characteristics and health of neonatal Saanen kids sucking milk from their dams. *Animal* 6: 1947-1954.
- Kazemi-Bonchenari M., H. A. Ghasemi, M. Khodaei-Motlagh, A. H. Khabtabadi-Farahani, and M. Ilani. 2013. Influence of feeding synbiotic containing *Enterococcus faecium* and inulin on blood metabolites, nutrient digestibility and growth performance in sheep fed alfalfa-based diet. *Sci. Res. Essays* 8: 853-857.
- Khalid M. F., M. Sarwar, Mahr-Un-Nisa, and Zia-Ur-Rehman. 2011. Response of growing lambs fed on different vegetable protein sources with or without probiotics. *Int. J. Agric. Biol.* 13: 332-338.
- Khiralla G. M. 2015. Cholesterol degradation by some bacteria isolated from food. *Food Sci. Technol. Res.* 21: 685-693.
- Kolver E. S., and M. J. De Veth. 2002. Prediction of ruminal pH from pasture-based diets. *J. Dairy Sci.* 85:1255-1266.
- Król B. 2011. Effect of mannanoligosaccharides, inulin and yeast nucleotides added to calf milkreplacers on rumen microflora, level of serum immunoglobulin and health condition of calves. *EJPAU.* 14: 18.
- Le Jambre L. F., S. Dominik, S. J. Eady, J. M. Henshall, and I. G. Colditz. 2007. Adjusting worm egg counts for faecal moisture in sheep. *Vet. Parasitol.* 145:108-115.
- Lettat A., P. Nozière, M. Silberberg, D. Morgavi P., C. Berger, and C. Martin 2012. Rumen microbial and fermentation characteristics are affected differently by bacterial probiotic supplementation during induced lactic and subacute acidosis in sheep. *BMC Microbiol.* 12: 1-12.
- Malmuthuge N., P. J. Griebel, and L. L. Guan. 2015. The gut microbiome and its potential role in the development and function of newborn calf gastrointestinal tract. *Front. Vet. Sci.* 2: 1-10.
- Maron D. F., T. J. S. Smith, and K. E. Nachman. 2013. Restrictions on antimicrobial use in food animal production: an international regulatory and economic survey. *Globalization Health* 9: 1-11.
- Márquez-Aguirre A. L., R. M. Camacho-Ruiz, Y. K. Gutiérrez-Mercado, E. Padilla-Camberos, M. González-Ávila, F. J. Gálvez-Gastélum, N. E. Díaz-Martínez, and D. Ortuño-Sahagún. 2016. Fructans from *Agave tequilana* with a lower degree of polymerization prevent weight gain, hyperglycemia and liver steatosis in high-fat diet-induced obese mice. *Plant Foods Hum. Nutr.* 71: 416-421.
- McCullough H. 1967. The determination of ammonia in whole blood by a direct colorimetric method. *Clin. Chim. Acta* 17: 297-304.
- Moarrab A., T. Ghoorchi, S. Ramezanpour, F. Ganji, and A. R. Koochakzadeh. 2016. Effect of synbiotic on performance, intestinal morphology, fecal microbial population and blood metabolites of suckling lambs. *Iran J. Appl. Anim. Sci.* 6: 621-628.
- Moreno-Vilet L., R. M. Camacho-Ruiz, and D. P. Portales-Pérez. 2016. Prebiotic Agave Fructans and Immune Aspects. *In: Watson R. R. y Preedy R. V. (eds). Probiotics, Prebiotics, and Synbiotics. Bioactive Foods in Health Promotion.* Academic Press, USA. pp: 165-179.
- Mousa, K. M., O. M. El-Malky, Komonna, O. F., and S. E. Rashwan. 2012. Effect of some yeast and minerals on the productive and reproductive performance in ruminants. *J. Anim. Sci* 8: 291-303.
- Mukhtar N., M. Sarwar, M. U. Nisa, and M. A. Sheikh. 2010. Growth response of growing lambs fed on concentrate with or without ionophores and probiotics. *Int. J. Agric. Biol.* 12: 734-738.
- Musa H. H., S. L. Wu, C. H., Zhu H. I. Seri, and G. Q. Zhu. 2009. The potential benefits of probiotics in animal production and health. *J. Anim. Vet. Adv.* 8: 313-321.
- Njidda A. A., A. A. Shuai'bu, and C. E. Isidahomen. 2014. Haematological and serum biochemical indices of sheep in semi-arid environment of northern Nigeria. *Global J. Sci. Frontier Res: D Agric. Vet.* 14: 48-56.
- NRC (National Research Council). 2007. *Nutrient Requirements of Small Ruminants: Sheep, Goats, Cervids and New World Camelids.* The National Academy Press. Washington, DC. USA. 362 p.
- NseAbasi N. E., M. E. Williams, U. Akpabio, and E. E. A. Ofiong. 2014. Haematological parameters and factors affecting their values. *Agric. Sci.* 2: 37-47.
- Paßlack N., M. Al-samman, W. Vahjen, K. Männer, and J. Zentek. 2012. Chain length of inulin affects its degradation and the microbiota in the gastrointestinal tract of weaned piglets after a short-term dietary application. *Livest. Sci.* 149: 128-36.
- Praznik W., R. Löppert, J. M. Cruz, K. Zangger, and A. Huber. 2013. Structure of fructo-oligosaccharides from leaves and stem of *Agave tequilana* weber, var. azul. *Carbohydr. Res.* 381: 64-73.
- Pringsulaka O., K. Rueangyotchanthana, N. Suwannasai, R. Watanapokasin, P. Amnuaysit, S. Sunthornthummas, S. Sukkhumet, S. Sarawaneeyaruk, and A. Rangsiruji. 2015. *In vitro* screening of lactic acid bacteria for multi-strain probiotics. *Livest. Sci.* 174: 66-73.
- Russell K. E., and A. J. Roussel 2007. Evaluation of the ruminant serum chemistry profile. *Vet. Clin. N. Am. Food A.* 23: 403-426.
- Santillo A., G. Annicchiarico, M. Caroprese, R. Marino, A. Sevi, and M. Albenzio. 2012. Probiotics in milk replacer influence lamb immune function and meat quality. *Animal* 6: 339-345.
- Saleem A. M., A. I. Zanouny, and A. M. Singer. 2017. Growth performance, nutrients digestibility, and blood metabolites of lambs fed diets supplemented with Probiotics during pre- and post-weaning period. *Asian-Australas J. Anim. Sci.* 30: 523-530.
- Samanta A. K., S. Senani, A. P. Kolte, M. Sridhar, and N. Jayapal. 2012. Effect of prebiotic on digestibility of total mixed ration. *Indian Vet. J.* 89: 41-42.
- Samanta A. K., Jayapal N., S. Senani, A. P. Kolte, and M. Sridhar. 2013. Prebiotic inulin: Useful dietary adjuncts to manipulate the livestock gut microflora. *Braz. J. Microbiol.* 44: 1-14.

- SAS Institute Inc., 2012. Statistical Analysis System (SAS/STAT® 12.1) User's Guide: SAS Inst. Inc. Cary, NC. 3424 p.
- Soliman S. M., A. M. El-Shinnawy, and A. M. El-Morsy. 2016. Effect of probiotic or prebiotic supplementation on the productive performance of Barki lambs. *J. Anim. Poul. Prod.* 7: 369-376.
- Uyeno Y., S. Shigemori, and T. Shimosato. 2015. Effect of probiotics/prebiotics on cattle health and productivity. *Microbes Environ.* 30: 126-132.
- van de Wiele T., N. Boon, S. Possemiers, H. Jacobs, and W. Verstraete. 2007. Inulin-type fructans of longer degree of polymerization exert more pronounced *in vitro* prebiotic effects. *J. Appl. Microbiol.* 102: 452-460.
- Vlková E., M. Grmanova, V. Rada, I. Homutova, and S. Dubna. 2009. Selection of probiotic bifidobacteria for lambs. *Czech J. Anim. Sci.* 54: 552-565.
- Yang B., B. He, S. S. Wang, J. X. Liu, and J. K. Wang. 2015. Early supplementation of starter pellets with alfalfa improves the performance of pre- and post-weaning Hu lambs. *J. Anim. Sci.* 93: 4984-4994.
- Yoo J. Y., and S. S. Kim. 2016. Probiotics and prebiotics: Present status and future perspectives on metabolic disorders. *Nutrients* 8: 1-20.
- Zhao P. Y., and I. H. Kim. 2015. Effect of direct-fed microbial on growth performance, nutrient digestibility, fecal noxious gas emission, fecal microbial flora and diarrhea score in weaning pigs. *Anim. Feed Sci. Technol.* 200: 86-92.

