

Effect of the inclusion of SUBTILPROBIO® zootechnical additive in the production of different livestock categories in Matanzas. Technical note

Efecto de la inclusión del aditivo zootécnico SUBTILPROBIO® en la producción de diferentes categorías pecuarias en el territorio matancero.

Nota técnica

Grethel Milián¹, A. Beruvides¹, Y. Pérez², Marlen Rodríguez¹, Ana J. Rondón¹, M. L. Pérez³ and Iraní Placeres¹

¹ Universidad de Matanzas, Autopista Varadero, km 3 ½, Matanzas. Cuba

² Clínica Veterinaria, Medio entre Compostela y América, Matanzas. Cuba

³ Universidad Estatal Amazónica, km. 2 ½, Vía a Tena (Paso Lateral), Puyo. Pastaza
Departamento de Ciencias de la Tierra. Ecuador

Email: grethel.milian@umcc.cu

Grethel Milián: <https://orcid.org/0000-0002-4035-8643>

A. Beruvides: <https://orcid.org/0000-0002-8525-6595>

Y. Pérez: <https://orcid.org/0000-0002-3420-3450>

Ana Julia Rondón: <https://orcid.org/0000-0003-3019-1971>

Marlen Rodríguez: <https://orcid.org/0000-0003-4248-3728>

M. L. Pérez: <https://orcid.org/0000-0002-9473-6507>

Iraní Placeres: <https://orcid.org/0000-0002-4035-8643>

The impact that the use of the nutritional additive SUBTILPROBIO® has on the feeding of different livestock categories is exposed: laying hens L33, Heavy Pure Lines E1 and B4, Yorkshire - Landrace x L35 pigs, in breeding, pre-fattening and fattening, and small ruminants. The research was carried out at different times and enterprises in Matanzas territory: Combinado Avícola, Empresa Genética Avícola and Pie de Cría, Unidades Porcinas and Empresa Pecuaria Genética de Matanzas, Cuba. This additive was made with the strains *Bacillus subtilis* subspecies *subtilis* C-31, C-34 and E-44 at a concentration of 10⁹ cfu/g. The results showed increases in the productive indicators: live weight, intake, conversion, egg production, decrease in cracked and disqualified eggs, economic benefits for weight concepts. The health indicators showed positive results for mortality, viability, death by pecking or cannibalism, decrease in the presence of bacterial and immunological diseases. The effectiveness of the zootechnical additive SUBTILPROBIO® was showed as an alternative in livestock production.

Key words: *nutritional additives, Bacillus endospores, animal feeding, antibiotics, probiotics*

According to the FAO (2021), untreatable infections affect people, plants and animals worldwide, even with the use of the most powerful antimicrobial treatments. This occurs due to the resistance that has developed against the latter. Currently, the FAO, the Pan American Health Organization, the World Health Organization and the World Organization for Animal Health are working to guarantee the sustainability of agri-food systems.

Due to their dual purpose, antibiotics serve as drugs, and also as growth promoters, because they help control the pathogenic bacterial microbiota and

Se expone el impacto que tiene en la práctica productiva el uso del aditivo nutricional SUBTILPROBIO® en la alimentación de diferentes categorías pecuarias: gallinas ponedoras L33, Líneas Puras Pesadas E1 y B4, cerdos Yorkshire - Landrace x L35, en cría, preceba y ceba, y pequeños rumiantes. La investigación se llevó a cabo en diferentes momentos y unidades de producción del territorio matancero: Combinado Avícola, Empresa Genética Avícola y Pie de Cría, Unidades Porcinas y Empresa Pecuaria Genética de Matanzas, Cuba. Este aditivo se elaboró con las cepas *Bacillus subtilis* subespecie *subtilis* C-31, C-34 y E-44 en una concentración de 10⁹ ufc/g. Los resultados mostraron incrementos en los indicadores productivos: peso vivo, consumo, conversión, producción de huevos, disminución de huevos cascados y descalificados, beneficios económicos por conceptos de peso. Los indicadores de salud dejaron ver resultados positivos para mortalidad, viabilidad, muerte por picaje o canibalismo, disminución de la presencia de enfermedades bacterianas e inmunológicas. Se demostró la efectividad del aditivo zootécnico SUBTILPROBIO® como alternativa en las producciones pecuarias.

Palabras clave: *aditivos nutricionales, endosporas de Bacillus, alimentación animal, antibióticos, probióticos*

Según la FAO (2021), las infecciones que no se pueden tratar afectan en el mundo a personas, plantas y animales, incluso con el uso de los más potentes tratamientos antimicrobianos. Esto ocurre debido a la resistencia que se ha desarrollado ante estos últimos. En la actualidad, la FAO, la Organización Panamericana de la Salud, la Organización Mundial de la Salud y la Organización Internacional de Epizootias, trabajan para garantizar la sostenibilidad de los sistemas agroalimentarios.

Por su doble propósito, los antibióticos sirven como fármacos, y también como promotores de crecimiento, debido a que ayudan en el control de la microbiota

generate greater use of feed nutrients, so there is a response in productive indicators. However, improper use and overdose in its supply leads to the formation of bacteria resistant to common antibiotics (Arenas and Moreno 2018, Barros 2018 and Mingmongkolchai and Panbangred 2018).

The European Community prohibited its inclusion in the diet for prophylactic purposes (European Parliament and Council 2003). In this context, nutritionists and specialists began researches to search for new nutritional additives that would be harmless to animals and humans, with effects similar to those of these drugs (Molina 2019). In the world, some studies have performed on the incorporation of additives in animal production, made with *Bacillus spp.* endospores of that have probiotic activity (Peet *et al.* 2020 and Raudez and García 2020).

Cuba is no stranger to the development of biological products with a marked probiotic effect. The Centro de Estudios Biotecnológicos, of Facultad de Ciencias Agropecuarias from Universidad de Matanzas and the Instituto de Ciencia Animal, worked on obtaining zootechnical additives, made from different microbial groups, among which the SUBTILPROBIO® zootechnical additive highlighted. This additive is considered a commercial product for veterinary use, composed of *Bacillus subtilis* endospores.

One of the main objectives of livestock production in Cuba is to achieve high food production to meet the growing needs of the population. Hence, this article intends to expose the positive results in some productive and health indicators, obtained from the inclusion of this zootechnical additive in different livestock categories in Matanzas territory, as a way to increase livestock production.

The study was developed at different times and in different livestock units of Matanzas territory (table 1). To measure the impact of the inclusion of SUBTILPROBIO® zootechnical additive, the same procedure was used in all the units. A completely random design was applied, with two treatments. That is: control group CG, basal diet (corn-soybean) and group I GI, basal diet + zootechnical additive SUBTILPROBIO®. The additive was prepared from the strains of *Bacillus subtilis*, subspecies *subtilis* C-31 and E-44, according to the methodology of Milián *et al.* (2017). To measure the effect of their inclusion, productive and health indicators were taken as measurable indicators. In the production units, antibiotics were not applied as growth promoters.

There are dissimilar studies on the use of bacilli endospores in livestock production, in order to eliminate the use of antibiotics as growth promoters (Milián *et al.* 2021). The results of the inclusion of the SUBTILPROBIO® zootechnical additive in the diets of different livestock categories in Matanzas territory, allowed to observe improvements in productive and

bacteriana patógena y generan mayor aprovechamiento de los nutrientes del pienso, por lo que existe respuesta en los indicadores productivos. Sin embargo, el uso inadecuado y la sobredosis en su suministro da lugar a la formación de bacterias resistentes a los antibióticos comunes (Arenas y Moreno 2018, Barros 2018 y Mingmongkolchai y Panbangred 2018).

La Comunidad Europea prohibió su inclusión en la dieta con fines profilácticos (European Parliament and Council 2003). En este contexto, nutricionistas y especialistas iniciaron investigaciones para la búsqueda de nuevos aditivos nutricionales que resultaran inocuos para los animales y el hombre, con efectos similares a estos fármacos (Molina 2019). En el mundo se trabaja en la incorporación de aditivos en la producción animal, elaborados con endosporas de *Bacillus spp.* que poseen actividad probiótica (Peet *et al.* 2020 y Raudez y García 2020).

Cuba no está ajena al desarrollo de productos biológicos con marcado efecto probiótico. El Centro de Estudios Biotecnológicos, de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad de Matanzas y el Instituto de Ciencia Animal, trabajaron en la obtención de aditivos zootécnicos, elaborados a partir de diferentes grupos microbianos, entre los que se distingue el aditivo zootécnico SUBTILPROBIO®. Este aditivo se considera como producto comercial para uso veterinario, compuesto por endosporas de *Bacillus subtilis*.

Uno de los principales objetivos de la producción pecuaria en Cuba es lograr altas producciones de alimento para satisfacer las necesidades crecientes de la población. De ahí que este artículo pretende exponer los resultados positivos en algunos indicadores productivos y de salud, obtenidos a partir de la inclusión de este aditivo zootécnico en diferentes categorías pecuarias en el territorio matancero, como una vía para poder incrementar las producciones pecuarias.

El trabajo se desarrolló en distintos momentos y en diferentes unidades pecuarias del territorio matancero (tabla 1). Para medir el impacto de la inclusión del aditivo zootécnico SUBTILPROBIO® se procedió igual en todas las unidades. Se aplicó un diseño completamente aleatorizado, con dos tratamientos. Esto es: grupo control GC, dieta basal (maíz- soya) y grupo I GI, dieta basal + aditivo zootécnico SUBTILPROBIO®. El aditivo se elaboró a partir de las cepas de *Bacillus subtilis*, subespecie *subtilis* C-31 y E-44, según la metodología de Milián *et al.* (2017). Para medir el efecto de su inclusión, se tomaron como indicadores medibles los productivos y de salud. En las unidades de producción no se aplicó antibióticos como promotores del crecimiento.

Disímiles son los estudios del uso de las endosporas de bacilos en la producción pecuaria, con el fin de eliminar el uso de los antibióticos como promotores del crecimiento (Milián *et al.* 2021). Los resultados de la inclusión del aditivo zootécnico SUBTILPROBIO® en las dietas de diferentes categorías pecuarias del territorio

Table 1. Reference elements in the inclusion of the zootechnical additive SUBTILPROBIO® in different enterprice in Matanzas territory

Productive entity	Livestock category	Number of animals/treatments	Supply zootechnical additive SUBTILPROBIO®		
			Dose	Strain	
Unidad Avícola de Ponedoras	Layers Leghorn line L ₃₃ .	Güira	300 birds/treatments	10 ⁹ ufc/g of concentrate, manually mixed	<i>B. subtilis</i> C-31
		Baró Chiquito	1039 birds/treatments		<i>B. subtilis</i> E-44
Empresa Pecuaria Genética de Matanzas (EPGM)	Small ruminants	Los Quinientos	15 calves/treatments	10 ⁹ ufc/kg of concentrate equivalent to 10 mL/animal/d	<i>B. subtilis</i> E-44
		Recria 308	18 calves/treatments		<i>B. subtilis</i> C-31
Unidad Porcina Gelpis	Piglets from breeders York-Land (YL), Large White-Landrace (LWxL), and male pigs Duroc Jersey y L-3534	200 piglets/treatments		10 mL/animal/d	<i>B. subtilis</i> E-44

health responses, which translate indirectly into economic and environmental improvements, since there is no need to use drugs, hence, it could be said that this specific additive and in these categories showed an impact on livestock production in Matanzas.

Pérez *et al.* (2012) when they evaluated this additive in Line L33 layers, reported an increase in egg production (10 033.51/8 959.60), higher than the control. This was translated into an improved health response. Similar were the results obtained by Milián *et al.* (2019), when they included the SUBTILPROBIO® additive in the diets for birds of this same category and evaluated the indicators live weight (1640.0 g/1585.0 g), intake (10780 kg DM), conversion (1.92/2.10), eggs production (15,540/15,397), cracked eggs (1,092/1,114) and disqualified (69/76). The health indicators mortality (1/4), viability (99.6/98.6 %) and death by pecking or cannibalism did not show differences between treatments.

These results allow concluding that the zootechnical additive SUBTILPROBIO®, incorporated in the diets for birds in this category, showed a positive effect on the productive and health parameters. This allowed an economic benefit of \$16,110.00 and \$2,145.00 in each productive unit, and also an environmental, due to the non-use of drugs in the poultry production under study.

Hernández (2012) evaluated the zootechnical additive SUBTILPROBIO® in small ruminants belonging to Los Quinientos unit from EPGM. To determine the probiotic effect, live weight and the incidence of diarrhea, pneumonia and mortality were measured. The results showed an increase in live weight of 119/110 kg with respect to the control group. The health indicators

matancero, permitió observar mejoras en las respuestas productivas y de salud, las que se traducen de forma indirecta en mejoras económicas, y ambientales pues no hay necesidad de utilizar fármacos, de ahí, se pudiera decir que este aditivo en específico y en estas categorías mostró impacto en la producción pecuaria en Matanzas.

Pérez *et al.* (2012) cuando evaluaron este aditivo en ponedoras Línea L33 informaron incremento en la producción de huevos (10 033.51/8 959.60), superior con respecto al control. Lo que se tradujo en mejora de la respuesta de salud. Similares fueron los resultados obtenidos por Milián *et al.* (2019), cuando incluyeron en las dietas para aves de esta misma categoría el aditivo SUBTILPROBIO® y evaluaron los indicadores peso vivo (1640.0 g/1585.0 g), consumo (10780 kgMS), conversión (1.92/2.10), producción de huevos (15 540/15 397), huevos cascados (1092/1114) y descalificados (69/76). Los indicadores de salud mortalidad (1/4), viabilidad (99.6/98.6 %) y muerte por picaje o canibalismo no mostraron diferencias entre los tratamientos.

Estos resultados permiten concluir que el aditivo zootécnico SUBTILPROBIO®, incorporado en las dietas para aves en esta categoría, mostró efecto positivo en los indicadores productivos y de salud. Esto permitió el beneficio económico de 16 110.00\$ y 2 145.00\$ en cada unidad productiva, y también ambiental, debido a la no utilización de fármacos en la explotación aviar en estudio.

Hernández (2012) evaluó el aditivo zootécnico SUBTILPROBIO® en pequeños rumiantes pertenecientes a la unidad Los Quinientos de la EPGM. Para determinar el efecto probiótico midió el peso vivo y la incidencia de diarreas, neumonía y mortalidad. Los resultados mostraron incremento en el peso vivo de 119/110 kg con respecto al grupo control. Los indicadores de salud incidencia de diarreas 1/7, incidencia de neumonía -/2 y mortalidad -/4,

incidence of diarrhea 1/7, incidence of pneumonia -/2 and mortality -/4, showed differences with respect to the control for $P \leq 0.05$.

Silva (2013), in Recría unit # 308 (EPGM), evaluated the zootechnical additive SUBTILPROBIO® in small ruminants. The results showed an increase in the productive indicator live weight of 169/110 kg in relation to the control group. With regard to health indicators, the cited authors recorded the following values: total leukocytes (I/L) 8.98/7.7, lymphocytes (I/L) 75.5/70.1, segmented neutrophils (I/L) 33.23/29.75, hematocrit (g.L-1) 26.58/23.25, hemoglobin (g.L-1) 13.01/10.67, incidence of diarrhea 13/29 and mortality -/2.

From the economic point of view, the EPGM achieved an economic benefit in Los Quinientos unit of \$1,755.00, and in Recría # 308 of \$13,806.00. The results show the economic benefit of the inclusion of SUBTILPROBIO® additive in this category. As a consequence, there was a decrease in expenses for the use of medications and the income of higher profits due to the increase in live weight. For these reasons, it can be inferred that the application of the zootechnical additive SUBTILPROBIO® improves the economy of livestock industry.

Rondon *et al.* (2020a) evaluated the probiotic effect of the biopreparations PROBIOLACTIL® (*Lactobacillus salivarius* C-65), SUBTILPROBIO® (*Bacillus subtilis* E-44) and their mixture, on productive and health indicators in growing pigs. As a result, they verified that the additives and their mixture improved all the indicators. The evaluated biopreparations produced benefits in the animals, since they improved the eubiosis of the gastrointestinal tract, which contributed to the superiority ($P < 0.05$) in live weight (27.15 kg/25.59 kg), DMG (408.65 g/445.27 g) and weight gain (19.42 kg/16.36 kg) and feed conversion (2.44/2.90). In addition, the incidence of diarrhea decreased (8.57/67.14 %) in the treated animals. The economic benefit revealed an amount of \$46,410.00. The results confirm the probiotic potential of these biopreparations, when applied to pigs during the growth stage.

The results showed in this study coincide with many results, regarding the use of sporulated zootechnical additives with a marked probiotic effect, which are currently applied in livestock production (Sosa *et al.* 2018, Rodríguez *et al.* 2019, Arteaga *et al.* 2020, Rondón *et al.* 2020b, Rondón *et al.* 2020c and Milián *et al.* 2021).

The results show the effectiveness of SUBTILPROBIO® zootechnical additive as an alternative in livestock production. This is associated with a group of action mechanisms of probiotics, including altered microbial population balance, enhancement of the intestinal immune barrier, particularly through secretory IgA response, and decreased intestinal inflammatory responses. In

dejaron ver diferencias con respecto al control para $P \leq 0.05$.

Silva (2013), en la unidad Recría # 308 (EPGM), evaluó el aditivo zootécnico SUBTILPROBIO® en pequeños rumiantes. Los resultados mostraron incremento en el indicador productivo peso vivo de 169/110 kg en relación con el grupo control. Con respecto a los indicadores de salud, los autores citados registraron los siguientes valores: leucocitos totales (I/L) 8.98/7.7, linfocitos (I/L) 75.5/70.1, neutrófilos segmentados (I/L) 33.23/29.75, hematocrito (g.L-1) 26.58/23.25, hemoglobina (g.L-1) 13.01/10.67, incidencia de diarreas 13/29 y mortalidad -/2.

Desde el punto de vista económico, la EPGM logró un beneficio económico en la unidad Los Quinientos de \$1 755.00, y en la Recría # 308 de \$ 13 806.00. Los resultados muestran el beneficio económico de la inclusión del aditivo SUBTILPROBIO® en esta categoría. Como consecuencia, se registró disminución de los gastos por el uso de medicamentos y el ingreso de mayores ganancias por concepto de incremento de peso vivo. Por estas razones, se puede inferir que la aplicación del aditivo zootécnico SUBTILPROBIO® mejora la economía de la industria pecuaria.

Rondón *et al.* (2020a) evaluaron el efecto probiótico de los biopreparados PROBIOLACTIL® (*Lactobacillus salivarius* C- 65), SUBTILPROBIO® (*Bacillus subtilis* E-44) y su mezcla, en indicadores productivos y de salud en cerdos en crecimiento. Como resultado, comprobaron que los aditivos y su mezcla mejoraron todos los indicadores. Los biopreparados evaluados produjeron beneficios en los animales, ya que mejoraron la eubiosis del tracto gastrointestinal, lo que contribuyó a la superioridad ($P < 0.05$) en el peso vivo (27.15 kg/25.59 kg), la GMD (408.65 g/445.27 g) e incremento de peso (19.42 kg/16.36 kg) y conversión alimentaria (2.44/2.90). Además, disminuyó la incidencia de diarreas (8.57/67.14 %) en los animales tratados. El beneficio económico dejó ver un monto de \$ 46 410.00. Los resultados confirman el potencial probiótico que tienen estos biopreparados, cuando se aplican a cerdos durante la etapa de crecimiento.

Los resultados que se exponen en este trabajo coinciden con muchos resultados, en cuanto al uso de aditivos zootécnicos esporulados con marcado efecto probiótico, que se aplican actualmente en las producciones pecuarias (Sosa *et al.* 2018, Rodríguez *et al.* 2019, Arteaga *et al.* 2020, Rondón *et al.* 2020b, Rondón *et al.* 2020c y Milián *et al.* 2021).

Los resultados demuestran la efectividad del aditivo zootécnico SUBTILPROBIO® como una alternativa en las producciones pecuarias. Esto se asocia a un grupo de mecanismos de acción de los probióticos, entre los que se incluyen equilibrio de la población microbiana alterada, mejoramiento de la barrera inmunológica intestinal, particularmente mediante la respuesta de IgA secretora y la disminución de las respuestas inflamatorias intestinales. Además, lo expuesto hasta aquí deja ver la importancia de la aplicación de buenas prácticas en todos los eslabones

addition, what has been exposed shows the importance of applying good practices in all stages of the production of animal source food and the implications of biological safety on farms, in terms of preventing infections by improving hygiene and animal welfare.

Acknowledgments

Thanks to the administrative directorates and workers involved in the research, belonging to Unidad Empresarial de Base Líneas Puras Pesadas, from Empresa Genética Avícola and Pie de Cría, to Unidades Avícola de Güira and Baro Chiquito, as well as to the Empresa Pecuaria Genética de Matanzas and their units Los Quinientos, Recría 308 and Porcina Gelpis.

Conflict of interests

The authors declare that there is no conflict of interest between them.

Author's contribution

Grethel Milián: Conceptualization, fundraising, research, project management, supervision, and original drafting

A. Beruvides Rodríguez: Research, project management, supervision and original drafting

Y. Pérez: Research, fundraising, project management and supervision.

Ana Julia Rondón: Research, fundraising, project management and supervision.

Marlen Rodríguez: Research, project management, supervision.

M. L. Pérez: Research, project management, supervision.

Iraní Placeres: Formal analysis and methodology.

de la producción de alimentos de origen animal y las implicaciones de la seguridad biológica en las granjas, en cuanto a la prevención de las infecciones mediante la mejora de la higiene y el bienestar de los animales.

Agradecimientos

Se agradece a las direcciones administrativas y obreros involucrados en la investigación, pertenecientes a la Unidad Empresarial de Base Líneas Puras Pesadas, de la Empresa Genética Avícola y Pie de Cría, a las Unidades Avícola de Güira y Baro Chiquito, así como a la Empresa Pecuaria Genética de Matanzas y sus unidades Los Quinientos, Recría 308 y Porcina Gelpis.

Conflicto de intereses

Los autores declaran que no existe conflicto de intereses entre ellos.

Contribución de los autores

Grethel Milián Florido: Conceptualización, adquisición de fondos, investigación, administración de proyectos, supervisión y redacción del borrador original

Agustín Beruvides Rodríguez: Investigación, administración de proyectos, supervisión y redacción del borrador original

Yoenier Pérez Fernández: Investigación, adquisición de fondos, administración de proyectos y supervisión.

Ana Julia Rondón Castillo: Investigación, adquisición de fondos, administración de proyectos y supervisión.

Marlen Rodríguez Oliva: Investigación, administración de proyectos, supervisión.

Manuel Lázaro Pérez Quintana: Investigación, administración de proyectos y supervisión.

Iraní Placeres Espinosa: Análisis formal y metodología.

References

- Arenas, N.E. & Moreno, E.M. 2018. "Producción pecuaria y emergencia de antibiótico resistencia en Colombia: Revisión sistemática". Revista de la Asociación Colombiana de Infectología. 22(2): 110-119, ISSN: 0123-9392, <https://doi.org/10.22354/issn.2422-3974>.
- Arteaga, F.Ch., Rondón, A.J.C., Milián, G.F., Laurencio, M., Narváez, G.N., Velez, L. A., Pinto, G. & Muñoz, J. 2020. "Effect of a probiotic mixture of *Bacillus subtilis* 20Bp and *Lactobacillus brevis* 40Lp on productive and health indicators of broilers". Cuban Journal of Agricultural Science, 54(1): 1-10, ISSN: 2079-3480.
- Barros, M. V. C. 2018. Uso de probióticos en la alimentación de pollos broiler con diferente porcentaje de inclusión. Tesis presentada en opción al título de Médico Veterinaria Zootecnista, Universidad Politécnica Salesiana, Cuenca, Ecuador. p.71.
- European Parliament and Council. 2003. Regulation (EC) No. 1831/2003 of the European Parliament and of the Council of 22nd September 2003 on additives for use in animal nutrition. Offic. J. Eur. Union. L268/36.
- FAO. 2021. La resistencia a los antimicrobianos puede afectar la vida y el bienestar de millones de personas. Available: <https://www.paho.org/es/juntos-contra-resistenciamicrobiana>.
- Hernández, Y. & Pérez. 2012. Evaluación del SUBTILPROBIO en terneros lactantes de la Recría 'Los Quinientos'. Trabajo de Diploma de Culminación de Estudios Centro de Estudios Biotecnológicos. Universidad de Matanzas "Camilo Cienfuegos". p. 45.
- Milián, G., Rodríguez, M., Díaz, D., Rondón, A. J., Pérez, M. L. Q., Boucourt, R., Portilla, Y. & Beruvides, A. 2019. "Evaluation of the zootechnical additive SUBTILPROBIO® C-31 on feeding of laying hens in a commercial production unit". Cuban Journal of Agricultural Science, 53(2): 161-168, ISSN: 2079-3480.
- Milián, G., Rodríguez, M.O., González, O., Rondón, A.J.C., Pérez, M.L.Q., Beruvides, A.R. & Placeres, I. 2021. "Evaluation of the zootechnical additive SUBTILPROBIO® E-44 in productive and health indicators in heavy pure breeds birds under production conditions". Cuban Journal of Agricultural Science, 5(1): 67-75, ISSN: 2079-3480.
- Milián, G., Rondón, A. J., Pérez, M., Arteaga, F., Bocourt, R., Portilla, Y., Rodríguez, M., Pérez, Y., Beruvides, A. & Laurencio, M. 2017. "Methodology for the isolation, identification and selection of *Bacillus spp.* Strains for the preparation of animal

- additives". Cuban Journal of Agricultural Science, 51, (2):197-207, ISSN: 2079-3480.
- Mingmongkolchai, S. & Panbangred, W. 2018. "Bacillus probiotics: an alternative to antibiotics for livestock production". Journal of Applied Microbiology, 124(6):1334-1346, ISSN: 0021-8847. <http://dx.doi.org/10.1111/jam.13690>.
- Molina, A. 2019. "Probióticos y su mecanismo de acción en alimentación animal". Agronomía. Mesoamérica, 30(2): 601-611. ISSN: 2215-3608. <http://dx.doi.org/10.15517/am.v30i2.34432>.
- Peet, S. C. M.C., Verheijen, R., Jørgensen, L. & Raff, L. 2020. "Effects of a mixture of *Bacillus amyloliquefaciens* and *Bacillus subtilis* on the performance of growing-nursing pigs". Animal Feed Science and Technology, 261(114409), ISSN: 0377-8401. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2020.114409>.
- Pérez, M., Laurencio, M., Milián, G., Rondón, A., Arteaga, F., Rodríguez, M. & Borges, Y. 2012. "Evaluation of a probiotic mixture on laying hens feeding in a commercial farm". Pastos y Forrajes, 35 (3): 311-320. ISSN: 2078-8452.
- Raudex, M.A.S. & García, W.M.O. 2020. Evaluación del uso de probióticos en la producción de cerdos post-destete de genética Topigs Norsvin en la Finca El Porvenir, Municipio de Mulukukú, departamento de la RACCN. Trabajo de Tesis para optar por el título de Ingeniero Agrónomo. Camoapa, Boaco, Nicaragua, p.66.
- Rodríguez, M. O., Milián, G. F., Rondón, A. J. C., Beruvides, A. R. & Arteaga, F. 2019. "Antibacterial activity of the PROBIOLEV® symbiotic additive in broiler chickens infected with *Salmonella enterica*". Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología, 39: 34-40. ISSN: 1315-2556.
- Rondón, A. J., González, J., Rodríguez, M., Milián, G., Martínez, M. M., Beruvides, A., Valdivia, A. & Vera, R. 2020b. "In vitro metabolic activity of *Lactobacillus salivarius* and its effect on productive and health indicators of lactating calves". Cuban Journal of Agricultural Science, 54 (2):1-13, ISSN: 2079-3480.
- Rondón, A. J., Rodríguez, M., Milián, G. & Beruvides, A. 2020c. "Probiotic potential of *Lactobacillus salivarius* in animals of zootechnical interest". Cuban Journal of Agricultural Science, 54 (2):1-11, ISSN: 2079-3480.
- Rondón, A. J., Socorro, M., Beruvides, A., Milián, G., Rodríguez, M., Arteaga, F. & Vera, R. 2020a. "Probiotic effect of PROBIOLACTIL®, SUBTILPROBIO® and their mixture on productive and health indicators of growing pigs". Cuban Journal of Agricultural Science, 54(3): 1-10, ISSN: 2079-3480.
- Silva, Y. 2013. Efecto probiótico de un biopreparado de *Bacillus subtilis* C-31 en terneros lactantes. Thesis. Universidad de Matanzas, Cuba.p.70.
- Sosa, D.C., García, Y. & Dustet, J. C. M. 2018. "Desarrollo de probióticos destinados a la producción animal". Cuban Journal of Agricultural Science, 52(4): 357-373, ISSN: 2079-3480.

Received: January 6, 2022

Accepted: February 25, 2022

