



**Centro de Investigación en Alimentación y
Desarrollo, A.C.**

**MICROBIOTA INTESTINAL Y COMPORTAMIENTO
PRODUCTIVO EN CERDOS FINALIZADORES ALIMENTADOS
CON UNA DIETA ADICIONADA CON ORUJO DE UVA**

Por:

Kevin Alberto Aviles Peterson

TESIS APROBADA POR LA COORDINACIÓN DE NUTRICION

Como requisito parcial para obtener el grado de

MAESTRO EN CIENCIAS

APROBACIÓN

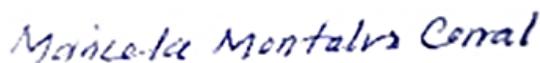
Los miembros del comité designado para la revisión de la tesis de Kevin Alberto Aviles Peterson, la han encontrado satisfactoria y recomiendan que sea aceptada como requisito parcial para obtener el grado de Maestro en Ciencias.



Dra. Araceli Pinelli Saavedra
Directora de tesis



Dr. Humberto González Ríos
Integrante del comité de tesis



Dra. Maricela Montalvo Corral
Integrante del comité de tesis



M.C. Mónica Guadalupe Reséndiz Sandoval
Integrante del comité de tesis

DECLARACIÓN INSTITUCIONAL

La información generada en la tesis “Microbiota Intestinal y Comportamiento Productivo en Cerdos Finalizadores Alimentados con una Dieta Adicionada con Orujo de Uva” es propiedad intelectual del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. (CIAD). Se permiten y agradecen las citas breves del material contenido en esta tesis sin permiso especial del autor Kevin Alberto Aviles Peterson, siempre y cuando se dé crédito correspondiente. Para la reproducción parcial o total de la tesis con fines académicos, se deberá contar con la autorización escrita de quien ocupe la titularidad de la Dirección General del CIAD.

La publicación en comunicaciones científicas o de divulgación popular de los datos contenidos en esta tesis, deberá dar los créditos al CIAD, previa autorización escrita del director(a) de tesis.



**CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN
ALIMENTACIÓN Y DESARROLLO, A.C.**
Coordinación de Programas Académicos



Dr. Pablo Wong González
Director General

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por brindarme el apoyo financiero durante mis estudios de maestría.

Al Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A. C (CIAD) por permitirme llevar a cabo mis estudios de posgrado y ser parte de mi formación académica.

Al Departamento de Agronomía y Ganadería de la Universidad de Sonora por brindarnos sus instalaciones y ser parte fundamental de nuestro trabajo.

A mi directora de tesis, la Dra. Araceli Pinelli Saavedra, por asesorarme durante todo este proceso, por el tiempo dedicado a este trabajo y por su gran apoyo, tanto académica como personalmente.

A mi comité de tesis, el Dr. Humberto González Ríos, la Dra. Maricela Montalvo Corral y la M.C. Mónica Guadalupe Reséndiz Sandoval, por asesorarme cuando lo necesite y por el tiempo que dedicaron a este trabajo.

Al Dr. Miguel Ángel Barrera y a la Dra. Esther Sánchez Villalba por su apoyo y asesoramiento durante el trabajo experimental.

Al Dr. Héctor Parra, por su gran apoyo y ser parte importante de mi trabajo experimental y de laboratorio.

A mis amigos y compañeros, María Alejandra, Lesslie, Karley, Isabel y Jesús, por su amistad, por hacer más ameno nuestro trabajo experimental y por ser parte fundamental del mismo.

A mis amigas y compañeras de maestría, Mayra y Miriam, por brindarme una gran amistad, por motivarme a seguir adelante y acompañarme durante este proceso.

A mis primos, Fernanda y Andre, por su apoyo incondicional y siempre motivarme a cumplir mis metas.

Por último, pero no menos importantes, a mis padres Lydia y Roberto, por ser un pilar fundamental en mi vida y siempre impulsarme a ser una mejor persona y profesionalista.

DEDICATORIA

“A mis padres Lydia y Roberto, por apoyarme incondicionalmente, siempre motivarme a ser mejor persona y aconsejarme cuando lo he necesitado. Gracias por hacer esto posible”

CONTENIDO

APROBACIÓN	2
DECLARACION INSTITUCIONAL	3
AGRADECIMIENTOS	4
DEDICATORIA	5
TABLA DE CONTENIDO	6
LISTADO DE FIGURAS	8
LISTADO DE CUADROS	9
RESUMEN	10
ABSTRACT	11
1. INTRODUCCIÓN	12
2. ANTECEDENTES Y JUSTIFICACIÓN	14
2.1. Aditivos Alternativos para Mejorar la Producción Animal.....	14
2.2. Maduración de la Microbiota Intestinal en Cerdos	15
2.3. Efecto de los Fitoquímicos en el Comportamiento Productivo y Microbiota Intestinal de Cerdos.....	19
2.4. Compuestos Fenólicos y su Efecto Prebiótico	21
2.4.1.Efecto Prebiótico en Otras Especies, Humanos e <i>In vitro</i>	22
2.4.2. Efecto Prebiótico en Cerdos.....	23
2.5. Compuestos Fenólicos en el OU	24
2.6. Orujo de Uva: Microbiota Intestinal y Parámetros Productivos	25
2.6.1. Efecto en la Microbiota Intestinal y en el Comportamiento Productivo de Otras Especies.....	26
2.6.2. Efecto en la Microbiota Intestinal y en el Comportamiento Productivo de Cerdos.....	26
3. HIPÓTESIS	29
4. OBJETIVOS	30
4.1. Objetivo General.....	30
4.2. Objetivos Particulares.....	30
5. MATERIALES Y MÉTODOS	31
5.1. Lugar de Estudio.....	31
5.2. Animales.....	31
5.3. Alimentación y Tratamientos	31
5.4. Recolección de Muestras de Heces	32
5.5. Análisis de la Microbiota.....	33
5.5.1. Extracción de ADN Genómico.....	33
5.5.2. Identificación y Cuantificación de la Microbiota.....	34
5.6. Evaluación del Comportamiento Productivo.....	35

CONTENIDO (continuación)

5.6.1 Ganancia de Peso.....	35
5.6.2. Consumo de Alimento.....	35
5.6.3. Conversión de Alimento.....	35
5.7. Diseño Experimental y Análisis Estadístico.....	35
6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	37
6.1. Composición Química y Capacidad Antioxidante de la Harina de OU	37
6.2. Evaluación del Comportamiento Productivo.....	38
6.3. Evaluación de la Microbiota Intestinal.....	40
7. CONCLUSIONES.....	47
8. RECOMENDACIONES.....	48
9. REFERENCIAS	49

LISTA DE FIGURAS

Figura		Página
1	Comportamiento de la abundancia relativa de los géneros bacterianos de interés del día 0 al día 31.....	43
2	Abundancia relativa de los géneros bacterianos al final de la suplementación.....	44

LISTA DE CUADROS

Cuadro		Página
1	Composición y análisis proximal del alimento para cerdos finalizadores KOWI®.....	32
2	Secuencias de iniciadores utilizados en qPCR para el análisis de abundancia relativa de géneros y especies de la MI.....	34
3	Análisis proximal, contenido de fenoles y capacidad antioxidante del orujo de uva.....	38
4	Comportamiento productivo de cerdos alimentados con dieta testigo y con dieta experimental.....	40
5	Abundancia relativa de los géneros bacterianos de interés al día 0.....	41

RESUMEN

La industria porcícola es una de las industrias cárnicas con mayores volúmenes de producción a nivel mundial. Sin embargo, la utilización de antibióticos como promotores del crecimiento aún es indispensable para cubrir la gran demanda de proteína animal. No obstante, su utilización ha sido fuertemente señalada por representar un serio problema de salud pública. Por lo que es de importancia encontrar alternativas que permitan mantener la salud y parámetros productivos eficientes hasta la etapa de finalización. Aditivos con efecto prebiótico, como el orujo de uva (OU), puede ser la solución. Debido a sus propiedades bioactivas atribuidas a su riqueza en polifenoles, se le ha comprobado efectos positivos en la microbiota intestinal, en el crecimiento y en algunos parámetros indicadores de la salud animal. Sin embargo, en cerdos finalizadores son escasos los estudios en los que se evalúe su efecto prebiótico. El objetivo del trabajo fue evaluar el efecto de la suplementación de OU sobre la microbiota intestinal y desempeño productivo de cerdos finalizadores. Para esto, se utilizaron 20 cerdos finalizadores macho (Duroc x Yorkshire, peso vivo inicial de 80 kg), alojados individualmente en corraletas provistas de bebedero y comedero. Los animales fueron sometidos a una prueba de alimentación por 31 días, donde se asignaron aleatoriamente a uno de dos tratamientos (n=10): Testigo (dieta comercial, (DB) sin OU) y OU (DB + 25 g OU/ kg). El comportamiento productivo se evaluó mediante la ganancia de peso diaria, el consumo de alimento diario y la conversión del alimento. Los cambios en la composición y abundancia de la microbiota se evaluaron mediante qPCR en muestras de heces. La suplementación con OU incrementó significativamente ($p < 0.05$) el consumo de alimento y la ganancia de peso, pero no mostró efecto en la conversión alimenticia ($p > 0.05$). En cuanto a la microbiota, la suplementación no tuvo efecto ($p > 0.05$) en los géneros *Lactobacillus* spp, *Faecalibacterium praustnitzii* y *E. coli*, pero *Campylobacter* spp. incrementó ($p < 0.05$). Si bien, no se observó el comportamiento esperado en la microbiota intestinal, su efecto positivo en la ganancia de peso podría permitir acortar los tiempos de producción.

Palabras clave: Microbiota intestinal, comportamiento productivo, orujo de uva, prebiótico, compuestos fenólicos.

ABSTRACT

The pig industry is one of the meat industries with the highest production volumes worldwide. However, the use of antibiotics as growth promoters is still essential to meet the high demand for animal protein. However, its use has been strongly pointed out as representing a serious public health problem. Therefore, it is important to find alternatives to maintain health and efficient production parameters until the completion stage. Additives with a prebiotic effect, such as grape pomace (GP), may be the solution. Due to its bioactive properties attributed to its abundant polyphenols content, it has been shown to have positive effects on the intestinal microbiota, on growth and on some indicator parameters of animal health. However, in finishing pigs, there are few studies evaluating its prebiotic effect. The objective of the work was to evaluate the effect of OU supplementation on the intestinal microbiota and the productive performance of finishing pigs. Twenty 20 male finishing pigs (Duroc x Yorkshire, initial live weight of 80 kg) were used, housed individually in pens provided with drinkers and feeders. The feed experimental phase lasted 30 days, and ten animals were randomly assigned to each treatment: Control (commercial diet (BD) without GP) and GP (BD + 2.5% GP/kg). Productive performance was evaluated by daily weight gain, daily feed intake and feed conversion. Changes in the composition and abundance of the microbiota were evaluated by qPCR on stool samples. GP supplementation significantly ($p < 0.05$) increased feed intake and weight gain, but showed no effect on feed conversion ($p > 0.05$). Regarding the microbiota, supplementation had no effect ($p > 0.05$) on the genera *Lactobacillus* spp, *Faecalibacterium prausnitzii* and *E. coli*, but *Campylobacter* spp. increased ($p < 0.05$). The results on intestinal microbiota were not expected; however, a positive effect on weight gain was found, allowing for shortening production times.

Keywords: Gut microbiota, productive performance, grape pomace, prebiotic, phenolic compounds.

1. INTRODUCCIÓN

Una de las industrias cárnicas con mayores volúmenes de producción a nivel mundial, es la carne de cerdo, con una generación anual de 120.9 millones de toneladas. México es el 13° productor con el 1.2% (1,600,446 toneladas) de la producción total. Sonora es la segunda entidad con mayor volumen de producción en el país, aportando unas 308,105 toneladas por año (SIAP, 2020).

La intensificación de los procesos de producción ha permitido a México incrementar el volumen de la carne de cerdo en canal. El proceso puede ser continuo, desde llevar a cabo la reproducción, el destete-desarrollo y la engorda-finalización o simplemente enfocarse en la engorda de animales de la misma edad y finalizados, para comercializarlos. Este sistema de producción permite criar gran cantidad de animales y reducir los costos, al utilizar las instalaciones y equipos de forma eficiente. Así, se hace frente a la alta demanda de productos porcinos de alto valor nutricional, accesibles para un gran sector de la población (INTA e INATEC, 2010; SIAP, 2020).

El destete es una de las etapas cruciales en la vida del cerdo, en donde las prácticas comerciales promueven en muchos casos la prevalencia de decesos, enfermedades y problemas en su crecimiento y desarrollo. Sin embargo, la salud y bienestar de los animales es un factor para considerar a lo largo de todo el proceso de producción, en donde la microbiota intestinal (MI) juega un papel muy importante en su salud. Posterior al destete, la composición y funcionalidad de la MI sufre cambios significativos constantemente hasta alcanzar el peso de mercado, jugando un papel importante como respuesta al estrés e impactando al crecimiento y correcto desarrollo del animal (Kim e Isaacson, 2015; Guevarra *et al.*, 2018; Pluske *et al.*, 2019). Además, cambios abruptos en la dieta o la utilización de ciertos ingredientes pueden ocasionar trastornos en la MI, incrementando el uso de antibióticos. Sin embargo, también es común la utilización de antibióticos como promotores del crecimiento en el cerdo durante sus primeras etapas de vida, con el objetivo de obtener mayores rendimientos de producción. No obstante, su utilización ha sido fuertemente señalada por promover a largo plazo disbiosis en los animales y generar resistencia en algunas bacterias patógenas, lo que representa mayores pérdidas económicas y un serio problema de salud pública (Looft *et al.*, 2012; World Health Organization, 2012; Carlson y Fangman, 2018). Actualmente, es de importancia continuar mejorando la producción de cerdo y reducir de alguna

forma el uso de antibióticos, incrementando también la protección al consumidor. Aunado a los problemas asociados al uso de antibióticos, los países integrantes de la Comunidad Económica Europea y Japón, ya cuentan con algunas regulaciones que prohíben la presencia de residuos de antibióticos en la carne, por lo que muchos antibióticos ya se encuentran prohibidos en estos países (Comisión del Codex Alimentarius, 1987). Por esto, es necesario encontrar nuevas alternativas que permitan mantener la salud intestinal de los animales desde su nacimiento hasta la etapa de finalización. La utilización de algunos aditivos fitoquímicos con efecto antibacteriano, antioxidante y/o prebiótico, pueden ser la solución; un ejemplo de estos es el orujo de uva (OU).

El OU es un producto de desecho proveniente de la industria vinícola, constituido principalmente por la cáscara, pulpa, tallo y semillas de la uva, y es rico en polifenoles, que le confieren propiedades benéficas para la salud humana y animal. (Chedea *et al.*, 2018; Balbinoti *et al.*, 2020). Por su contenido en compuestos fenólicos, diversos estudios han evaluado las propiedades antioxidantes, antibióticas, antifúngicas y antiinflamatorias del OU. Se ha observado, que éste promueve la proliferación de bacterias benéficas e inhibe otras que son patógenas, impactando positivamente el crecimiento y algunos parámetros indicadores de la salud de los animales (Kafantaris *et al.*, 2017; Chedea *et al.*, 2018; Wang *et al.*, 2020). Sin embargo, en cerdos son escasos los estudios y más aún en la etapa de finalización, en los que se evalúe su efecto prebiótico. Así, el objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de la suplementación de 2.5% de OU sobre la MI y el desempeño productivo de cerdos finalizadores.

2. ANTECEDENTES Y JUSTIFICACIÓN

2.1. Aditivos Alternativos para Mejorar la Producción Animal

En la actualidad, es necesario encontrar nuevas alternativas que permitan optimizar los niveles de producción animal, y así, hacer frente a la alta demanda de alimento de origen animal. Durante los últimos 80 años, los antibióticos han contribuido significativamente a la producción animal, reduciendo la incidencia de enfermedades bacterianas, mejorando la salud de los animales y la eficiencia de la producción. Sin embargo, la resistencia a los antimicrobianos y su efecto negativo en la salud humana existe una tendencia hacia su reducción y, de hecho, ya se encuentra prohibido en los países de la comunidad europea, Japón entre otros. Por esto, el efecto de diversos aditivos alimentarios es actualmente objeto de estudio, ya que se busca que estos ingredientes tengan un impacto benéfico en los parámetros productivos y en la salud intestinal de animales con importancia económica sin recurrir a los antibióticos (Sneeringer *et al.*, 2015; Lourenço *et al.*, 2019; Lourenco *et al.*, 2021).

Hoy en día, diversos aditivos ya han sido ampliamente estudiados por sus propiedades antimicrobianas, antioxidantes, antiinflamatorias, prebióticas, probióticas, entre otras propiedades más, así como el efecto que estas tienen tanto en animales monogástricos como en rumiantes. Además, algunas de las nuevas alternativas, ofrecen ventajas nutricionales, aportando proteína y ácidos grasos de calidad, así como también vitaminas, minerales y fibra. Entre estos ingredientes, se encuentran las harinas y aceites de insectos (*Acheta domesticus*, *Hermetia illucens*, *Tenebrio molitor*, entre otros) catalogados como ingredientes sustentables y con efectos benéficos en la producción animal (Bbosa *et al.*, 2019; Montowska *et al.*, 2019). Diversos estudios han reportado respuestas favorables en la ganancia de peso y conversión alimenticia de cerdos, aves y peces, atribuido no solo a su aporte nutricional sino también a su efecto prebiótico, el cual contribuye a la reducción de la disbiosis intestinal y de problemas infecciosos en los animales (Islam y Yang, 2017; Dabbou *et al.*, 2018; Benzertiha *et al.*, 2020).

Otro tipo de aditivos son los probióticos, comúnmente utilizados en la industria porcina para promover el crecimiento de los animales. Los microbios comensales considerados probióticos, son

los que muestran algún beneficio para el huésped. Dichos beneficios, están relacionados con la MI, ya que logran mejorar el aprovechamiento de los nutrientes e incrementar los sitios de adhesión en la mucosa intestinal, la producción de ácidos grasos de cadena corta y algunos compuestos antimicrobianos (Barba-Vidal *et al.*, 2019; Valeriano *et al.*, 2017). Algunas bacterias comúnmente utilizadas en mezclas probióticas son las bacterias ácido lácticas como los géneros *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* y *Enterococcus* (Pringsulaka *et al.*, 2015; Yang *et al.*, 2015; Duarte y Kim, 2022). También, enzimas como la xilanasas, la β -glucanasa y la β -mananasa han sido comúnmente utilizadas en la alimentación animal. Su efecto beneficioso se atribuye a su capacidad de modificar la MI al cambiar las propiedades fisicoquímicas del sustrato en la luz intestinal y liberando prebióticos y compuestos bioactivos, lo que beneficia a bacterias degradadoras de fibra sobre las bacterias proteolíticas (Kiarie *et al.*, 2013; Duarte *et al.*, 2020; Zhang *et al.*, 2018). A su vez, el incremento de la fermentación de la fibra dietética produce un aumento de ácidos grasos de cadena corta en el intestino, asociados a mejoras en la salud intestinal (Nakatani *et al.*, 2018; Duarte y Kim, 2022).

Por otro lado, diversos estudios han mostrado que ingredientes de origen vegetal ricos en compuestos bioactivos, conocidos como fitoquímicos, también tienen un uso potencial en la mejora de los parámetros de producción animal y en la salud intestinal de cerdos y corderos, principalmente. Lo anterior, atribuido a la capacidad prebiótica, antimicrobiana y antioxidante que les confiere su riqueza en compuestos fenólicos. Entre estos ingredientes ricos en compuestos fenólicos, destacan algunos compuestos puros, aceites esenciales y extractos de diversas plantas, como lo es el OU, un subproducto de la industria vinícola (Chedea *et al.*, 2017; Zhou *et al.*, 2020; Wang *et al.*, 2020). Sin embargo, aún se requiere generar más información respecto a estos compuestos con el objetivo de analizar mejor su mecanismo de acción y determinar los niveles de inclusión óptimos en la dieta.

2.2. Maduración de la Microbiota Intestinal en Cerdos

En sus primeros tres meses de vida, el cerdo se adapta a un nuevo entorno extrauterino, mientras atraviesa por un proceso de maduración y desarrollo gastrointestinal. A lo largo de este proceso, el

epitelio intestinal, sistema inmune, sistema nervioso entérico (ENS) y la MI, sufren cambios drásticos. Si bien, estos cambios le permiten al animal sobrevivir y adaptarse a un nuevo entorno, son muy susceptibles e influenciados por los cambios ambientales en este periodo tan crítico. Esto, podría generar alteraciones en las características y funciones del tracto gastrointestinal a largo plazo (McCracken y Lorenz, 2001; Moeser *et al.*, 2017).

La microbiota es un componente fundamental de la barrera gastrointestinal. Los mamíferos albergan alrededor de 500 y 1000 especies bacterianas en su tracto gastrointestinal (Kim e Isaacson, 2015). La MI es esencial para llevar a cabo con normalidad los procesos nutricionales, fisiológicos e inmunitarios del cerdo. Cumple funciones benéficas para el hospedero, como fermentación de carbohidratos, producción de vitaminas, mantenimiento de las vellosidades intestinales, regulación de la respuesta inmune y protección contra bacterias patógenas (Buffie y Palmer, 2013; Kamada *et al.*, 2013). Por esto, el crecimiento, el desarrollo del sistema inmune y la salud de los cerdos, está fuertemente relacionada con la MI, principalmente en la etapa de vida temprana (Guevarra *et al.*, 2018).

En el cerdo, la MI es un ecosistema complejo, de composición dinámica y diversidad cambiante a lo largo del tiempo y del tracto gastrointestinal (Isaacson y Kim, 2012). Ciertas prácticas en la producción porcina intensiva llegan a modificar de forma involuntaria el ecosistema microbiano intestinal, lo que genera la predisposición en los lechones a padecer enfermedades (Brestoff y Artis, 2013; Fohse *et al.*, 2016). El estrés que genera el destete en etapas tempranas altera aún más el ecosistema microbiano intestinal, haciéndolo susceptible a la proliferación de organismos patógenos como *Escherichia coli*, *Salmonella* y *Clostridium* spp., que pueden ocasionar morbimortalidad considerable (Konstantinov *et al.*, 2006; Fohse *et al.*, 2016). Si bien, el cambio abrupto de la dieta es uno de los principales factores que alteran la MI, esto no solo ocurre en el destete.

Durante la lactancia y el destete de los lechones, la dieta determina la composición de la MI, y ésta a su vez, se relaciona con la ganancia de peso post-destete. En la primera etapa de vida del cerdo, predominan en su MI, poblaciones de bacterias ácido-lácticas asociadas al consumo de leche, la cual le proporciona una ventaja nutricional (Frese *et al.*, 2015; Han *et al.*, 2017). Sin embargo, posterior al destete, la composición de la MI continúa en constante cambio hasta alcanzar la edad de mercado, por lo que es importante considerar la MI hasta la etapa de finalización, con el objetivo de mantener la salud intestinal y una mayor eficiencia en el comportamiento productivo. Se ha observado que las dietas ricas en pectina y enriquecidas con harina de soya disminuyen la

abundancia relativa de *Lactobacillus* e incrementan la de *Prevotella* en el colon. Por su parte, las proteínas de pescado se asocian al aumento de los géneros *Escherichia* y *Shigella* (Cao *et al.*, 2016). Por otro lado, *Campylobacter*, si bien es considerada parte de la microbiota comensal en cerdos, se ha observado que en lechones privados de calostro en una edad temprana llega a generar enteritis. Además, se ha reportado un incremento de la permeabilidad intestinal y alteración de las uniones estrechas posterior a su infección (MacCallum *et al.*, 2005; De Vries *et al.*, 2017; Rath *et al.*, 2021). Estas alteraciones en el ecosistema microbiano intestinal, a causa de diferentes ingredientes en su alimento, también incrementan la susceptibilidad a la colonización por organismos patógenos que ocasionan afecciones (Fouhse *et al.*, 2016).

Sin embargo, conforme el animal se acerca a su peso de mercado (100-115 kg), los cambios en su microbiota tienden hacia la estabilización, y la diversidad de ésta influye aún en el crecimiento del animal. Se ha correlacionado significativamente los géneros *Prevotella* y *Mitsuokella* con el peso corporal y la ganancia de peso promedio diaria (Ramayo-Caldas *et al.*, 2016). Los filos Firmicutes y Bacteroidetes, predominan en cerdos sanos (85-90% de la población), ya que la mayor parte de las bacterias comensales y benéficas para la salud del sistema gastrointestinal pertenecen a estos filos. Siendo Proteobacteria, Actinobacteria, Spirochaetes y Verrucomicrobia, filos también importantes, pero menos frecuentes. Mientras que *Clostridium*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Blautia*, *Ruminococcus*, *Roseburia* y *Enterococcus*, son de los principales géneros del filo Firmicutes. Mientras que *Bacteroides* y *Prevotella*, lo son del filo Bacteroidetes (Holman *et al.*, 2017; Xiao *et al.*, 2016; Bernad-Roche *et al.*, 2021).

De hecho, se ha reportado que, en cerdos finalizadores, los filos más abundantes en heces y en el colon, son Firmicutes y Bacteroidetes (Kim e Isaacson, 2015; Tan *et al.*, 2017), mientras que *Prevotella* y *Bacteroides* son los géneros predominantes. *Prevotella*, está involucrada en el metabolismo de algunos nutrientes y en la obtención de energía, también se ha asociado una mayor abundancia de este género con la presencia de fructo-oligosacáridos y almidón en el intestino delgado del huésped (Metzler- Zebeli *et al.* 2013; Tan *et al.*, 2018). Además, varias especies de *Lactobacillus* son bacterias ácido-lácticas, que también están presentes en cerdos en etapa de finalización, y se han asociado a individuos con una alta eficiencia alimenticia. Generalmente, las bacterias pertenecientes a este género son comúnmente consideradas como probióticos, atribuido a *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus fermentum* y *Lactobacillus ingluviei*, asociadas a la ganancia de peso en humanos y en animales. Sin embargo, algunas otras como *Lactobacillus*

gasseri y *Lactobacillus plantarum* tienden a causar pérdida de peso en animales (Million *et al.*, 2012).

Cambios abruptos en la dieta, pueden provocar trastornos intestinales severos e incrementar el uso de antibióticos, lo que implica importantes problemas económicos y de salud pública. Por un lado, el uso de antibióticos ha contribuido en la industria porcina a incrementar las ganancias de peso y a reducir el alimento requerido en los animales, y por otro lado, contribuye a largo plazo en la disbiosis de la microbiota y genera resistencia en algunas bacterias patógenas. Su acción como promotor del crecimiento radica en su efecto sobre la población bacteriana y el tracto intestinal. Estos antibióticos pueden promover el crecimiento de microorganismos fermentadores de fibra y productores de vitaminas y aminoácidos. Además, pueden inhibir el crecimiento de bacterias patógenas o que compiten con el huésped por los nutrientes, así como también, tienen un efecto en la reducción del epitelio intestinal, lo que beneficia la absorción de los nutrientes (Frese *et al.*, 2015; Gresse *et al.*, 2017; Carlson y Fangman, 2018). Sin embargo, debido a su capacidad para inhibir la proliferación tanto de microbios patógenos como benéficos, los antibióticos también contribuyen a la alteración de la microbiota en los animales. Su uso como promotor del crecimiento promueve la aparición y propagación de bacterias resistentes tanto en animales como en humanos. Tomando en cuenta que algunos de los mismos antibióticos o de la misma clase, son utilizados en animales de consumo humano y en la medicina humana, la transferencia de genes de resistencia de bacterias animales hacia bacterias humanas es un peligro potencial (Looft *et al.*, 2012; World Health Organization, 2012).

Para hacer más eficiente la producción de cerdo, es importante encontrar alternativas a los antibióticos que permitan mejorar la salud y los parámetros de producción no solo en sus primeras etapas de vida, sino también en la etapa de finalización, cuando la utilización de antibióticos como promotor de crecimiento ya no es una opción. Por regulaciones del mercado internacional, Japón, países integrantes de la Comunidad Económica Europea y algunos otros países más, han optado por mejorar la protección al consumidor, por lo que se debe retirar el uso de antibióticos 50 días previos al sacrificio. Una de ellas, es la utilización de aditivos alimentarios con la capacidad de participar en la regeneración y equilibrio de la MI.

2.3. Efecto de los Fitoquímicos en el Comportamiento Productivo y Microbiota Intestinal de Cerdos

Diversos estudios sugieren que el uso de distintos compuestos bioactivos derivados de las plantas, conocidos como fitoquímicos, son una potencial alternativa para mejorar la alimentación, la salud intestinal, el comportamiento productivo y a su vez reducir el uso de antibióticos en la producción animal. En los últimos años, los agentes antibacterianos más estudiados son provenientes de plantas, y han destacado mezclas complejas como los extractos y los aceites esenciales, así como compuestos puros como los terpenos, flavonoides y alcaloides. A su vez, han sido reportados con propiedades antioxidantes, inmunomoduladoras y con capacidad de modificar benéficamente la morfología intestinal y la mucosa del intestino (Álvarez-Martínez *et al.*, 2021; Li *et al.*, 2021). También se ha observado que estos compuestos no promueven resistencia en bacterias y no poseen efectos secundarios significativos, lo que los convierte en un aditivo funcional contra bacterias patógenas y un sustituto potencial a los antibióticos en la producción porcina. El uso de fitoquímicos podría beneficiar la producción animal y ser una posible solución a la actual crisis de bacterias resistentes a los antibióticos (Rossiter *et al.*, 2017; Li *et al.*, 2021).

Dentro de los compuestos vegetales puros, hay dos grupos que han destacado y han sido ampliamente estudiados en los últimos años. El grupo de los terpenos es el primero de ellos, destacando dentro de estos, el andrografólido, el borneol, alcanfor, carvacrol, entre muchos otros. El otro grupo son los polifenoles, donde destacan principalmente los flavonoides y los ácidos fenólicos. Ambos grupos poseen un mecanismo de acción similar, actúan interfiriendo en la membrana plasmática bacteriana, promoviendo su ruptura y la fuga de contenido intracelular. Si bien, no se conoce con exactitud la relación estructura-función de los fitoquímicos antibacterianos, todo parece apuntar que la posición del anillo aromático y la conjugación de algunos azúcares le confiere mayor afinidad a la membrana bacteriana y mayor capacidad para modular su permeabilidad (Fitzgerald *et al.*, 2004; Mandalari *et al.*, 2007; Álvarez-Martínez *et al.*, 2021).

En cuanto a los extractos vegetales, estos pueden provenir del tallo, hojas, flores, frutos, una mezcla de diferentes partes de la planta o de la planta completa. Gran parte de su actividad es atribuida a su contenido en flavonoides y sus derivados, sin embargo, algunos de sus componentes no poseen actividad antimicrobiana. Por lo cual, se requieren concentraciones del extracto más elevadas para

alcanzar una efectividad óptima de los compuestos activos, esto en comparación con compuestos vegetales puros. Sin embargo, la sinergia entre los compuestos de algunos extractos de plantas puede llegar a hacerlos muy potentes, no solo por su actividad antimicrobiana, sino también por otras actividades biológica, como la anticancerígena y su efecto en el metabolismo (Alvarez-Martinez *et al.*, 2020; Herranz-Lopez *et al.*, 2018; Olivares-Vicente *et al.*, 2019).

Por otro lado, los aceites esenciales son otro grupo de agentes vegetales muy estudiado. De igual forma, se conoce su potencial como antimicrobiano, atribuido en este caso a su alto contenido en terpenos. El mecanismo de acción de los diferentes terpenos que constituyen a los diversos aceites esenciales es muy variado y depende de su estructura química, pero de forma general, afectan la integridad y fluidez de la membrana celular, así como la homeostasis celular, debido a su capacidad para unirse a la membrana, a moléculas de ATP y cationes monovalentes como K⁺ (Yang *et al.*, 2015; Álvarez-Martínez *et al.*, 2021).

Además de su capacidad antimicrobiana y moduladora de la MI, los fitoquímicos poseen diversas actividades biológicas que benefician el funcionamiento del tracto gastrointestinal. Esto es atribuido principalmente a que incrementan la secreción de saliva, enzimas digestivas, bilis y mucosidad, además promueven la actividad antioxidante, antiinflamatoria y prebiótica en la luz intestinal, lo que resulta en una mejora de la salud intestinal y en el aprovechamiento de los nutrientes. En conjunto, resultan beneficiando la conversión alimenticia y/o el crecimiento en los animales, por lo que pueden considerarse una alternativa práctica como aditivo para mejorar los parámetros de producción animal (Upadhayay *et al.*, 2014; Valenzuela-Grijalva *et al.*, 2017). Por esto, han sido utilizadas una amplia variedad de hierbas y especias en los últimos años como promotores del crecimiento en la producción de aves de corral, cerdos y rumiantes. Dentro de esta variedad, destaca el tomillo, orégano, ajo, jengibre y canela, además, se han evaluado diversos aceites esenciales provenientes de las mismas, así como extractos de uva, arándano, yuca, entre otros frutos. Sin embargo, los efectos de estos fitoquímicos en el comportamiento productivo de diferentes animales son contrastantes, atribuido a las diferencias en la composición, el tipo de compuesto, las condiciones ambientales, el nivel de inclusión y la especie animal en la que se evaluó (Gadde *et al.*, 2017; Lillehoj *et al.*, 2018).

2.4. Compuestos Fenólicos y su Efecto Prebiótico

Los compuestos fenólicos pueden ser encontrados naturalmente en granos, vegetales, frutas, árboles y extractos de estos mismos, como moléculas fenólicas simples o compuestos altamente polimerizados (Vuolo *et al.*, 2019; Rosa *et al.*, 2019; Mahfuz *et al.*, 2021). Los ácidos fenólicos, flavonoides, taninos, avenantramidas, alquilresorcinoles, proantocianidinas oligoméricas y lignanos, son los fenoles más comunes. Destacando los ácidos fenólicos, los flavonoides y los taninos, como los más comúnmente utilizados en la alimentación humana y animal (Choy *et al.*, 2014; Vuolo *et al.*, 2019; Christaki *et al.*, 2020; Mahfuz *et al.*, 2021).

Estos compuestos tienen un gran potencial como promotores de crecimiento en animales de granja. Esto, aunado a que promueven la secreción de enzimas digestivas, inhiben la proliferación de bacterias patógenas y modulan la morfología intestinal gracias a su capacidad antioxidante y antiinflamatoria (Hashemi y Davoodi *et al.*, 2011; Giannenas *et al.*, 2018; Mahfuz *et al.*, 2021). Además de sus beneficios a la salud intestinal, la adición de estos compuestos en la dieta animal puede mejorar la palatabilidad del alimento incrementando su consumo, lo que representaría mejoras en los rendimientos de crecimiento en los animales. Su efecto en el crecimiento de los animales también puede atribuirse a que permiten un mayor aprovechamiento de los nutrientes y promueve procesos anabólicos directos o indirectos en los tejidos del huésped, esto atribuido a que mejora la fermentación del alimento (Surai, 2014; Valenzuela-Grijalva *et al.*, 2017). Su mecanismo de acción dependerá de la estructura del compuesto, su nivel de inclusión en la dieta, la duración del periodo experimental, la especie animal con la que se esté experimentando y su etapa de vida (Valenzuela-Grijalva *et al.*, 2017; Mahfuz *et al.*, 2021).

Los compuestos fenólicos poseen gran actividad antimicrobiana, con la capacidad de inhibir la proliferación de bacterias Gram negativas y Gram positivas. Su mecanismo de acción se sustenta en su naturaleza lipofílica que le confiere la capacidad de acumularse en la bicapa lipídica de la membrana celular bacteriana y de sus mitocondrias, lo que interfiere con su normal funcionamiento (Mohammadi Gheisar y Kim, 2018). Dichos compuestos incrementan la permeabilidad de la membrana bacteriana, lo que lleva a una homeostasis celular que a su vez provoca la muerte de ésta al perder iones. A su vez, interfieren en la producción de energía e inhiben la síntesis de ADN y ARN de las bacterias. De forma general, la actividad antimicrobiana de estos compuestos se

atribuye a su estructura química, en la cual los grupos hidroxilo (-OH) son los que exhiben actividades bactericidas.

2.4.1. Efecto Prebiótico en otras Especies, Humanos e *In vitro*

Hidalgo *et al.*, (2012), reportan que utilizando un modelo *in vitro* del intestino humano, las antocianinas mejoran de manera significativa el crecimiento de *Bifidobacterium* spp., *Lactobacillus* spp. y *Enterococcus* spp., lo que resulta benéfico para la MI. Sin embargo, son pocos los estudios que evalúan la interacción de las antocianinas con la MI *in vitro*, en animales y en humanos, por lo que resulta complicado determinar un efecto directo o indirecto sobre la proliferación de bacterias benéficas y patógenas (Ozidal *et al.*, 2016).

La (+)-catequina (C), (-)-epicatequina (EC), epigallocatequina, sus ésteres de galato y los taninos condensados son clasificados como flavonoles, y son el principal aporte de compuestos fenólicos de la dieta (Ozidal *et al.*, 2016). Tzounis et al. (2008) reportan mediante un modelo de colon distal elaborado mediante un sistema de fermentación con agitación y pH controlado un efecto de la (-)-epicatequina y (+)-catequina sobre la MI. La catequina mostró un efecto significativo en el crecimiento de las poblaciones de *Clostridium coccoides*, *Eubacterium rectale*, *Bifidobacterium* spp. y *Escherichia coli*, mientras que inhibió el crecimiento de *Clostridium histolyticum*. Por otro lado, la (-)-epicatequina tuvo una menor actividad en la modulación de la microbiota y solo mostró un efecto significativo en *C. coccoides* y *Eubacterium rectale*. Además, los autores reportan que en ambos compuestos, su efecto fue más notorio cuando se usó la concentración baja (150 mg/L), y concluyeron que el consumo de alimentos ricos en flavonoides podría favorecer la salud gastrointestinal aunado a sus efectos prebióticos.

Etxeberria et al. (2015), reportaron que la adición de quercentina en la dieta puede restaurar la MI modificada por una dieta alta en carbohidratos y lípidos, ya que observaron una modificación de la proporción relativa de Firmicutes: Bacteroides, y se inhibieron especies asociadas a la obesidad inducida por la dieta como *Erysipelotrichaceae* spp., *Bacillus* spp. y *Eubacterium cylindroides*.

2.4.2. Efecto Prebiótico en Cerdos

Araújo et al. (2018), reportan el efecto de la adición de extractos etanólicos de semilla de mango (EEMS) en la dieta de cerdos en crecimiento y finalización. Afirman que su utilización como antioxidante en niveles de 200 y 400 mg/kg no afecta el rendimiento del animal, la canal y la bioquímica sanguínea. Específicamente, la adición de EEMS a 400 mg/kg podría mejorar el rendimiento en cerdos en crecimiento e incrementar los compuestos fenólicos circulantes en sangre, lo que mejoraría la estabilidad lipídica y el potencial antioxidante del suero.

Por otro lado, Galassi et al. (2019), reportan que la suplementación con tanino de castaña en niveles de 1.5-5.3 g/kg en la dieta de cerdos en engorde, no influyó en la digestibilidad y aprovechamiento de los nutrientes dietarios, ni tampoco en el rendimiento de los cerdos. Concluyeron que la suplementación con taninos no ocasiono ningún efecto antinutricional a las concentraciones aplicadas en los cerdos.

Valverde (2020) reportó que el incremento en la adición de pulpa cítrica en las dietas de cerdos de engorde propició cambios en la MI y en la composición de ácidos grasos de la canal. Se observó una disminución de las enterobacterias fecales, los anaerobios totales y el recuento de lactobacilos en heces, mientras que el género *Bifidobacterium* incrementó. El perfil de ácidos grasos indicó una disminución en los ácidos grasos totales, saturados y poliinsaturados, mientras que los ácidos grasos monoinsaturados fueron mayores cuando se suplementó 24% de pulpa cítrica en la dieta. Si bien, no se reportan efectos significativos en la calidad de la carne y la canal, se concluyó que es posible adicionar pulpa cítrica a un nivel del 24% en el pienso para cerdo sin generar efectos negativos.

Choy et al. (2014), alimentaron a seis cerdos con una dieta adicionada con 1% de extracto de semilla de uva diariamente por 6 días y observaron un incremento drástico de los géneros bacterianos *Lachnospiraceae*, *Clostridiales*, *Lactobacillus* y *Ruminococcaceae*; lo cual fue atribuido a las proantocianidinas, las cuales mostraron ejercer un efecto en las poblaciones bacterianas y los compuestos fenólicos en el colon, por lo que tienen un uso potencial en la salud intestinal.

2.5. Compuestos Fenólicos en el OU

El OU es un producto de desecho proveniente de la industria vinícola, y es constituido principalmente por la cáscara y restos de pulpa, tallos y semillas de la uva. Su composición química dependerá fuertemente de la proporción de residuo que contiene, la variedad de uva, el entorno de la plantación y su procesamiento. Previamente, se ha reportado que el OU es rico en polifenoles de las clases antocianinas, catequinas, flavonoles, alcoholes, estilbenos, ácidos benzoicos (gálico, protocatequico, 4-hidroxibenzoico) y cinámico (*p*-cumárico) (Chedea *et al.*, 2017; Chedea *et al.*, 2018; Balbinoti *et al.*, 2020). Sin embargo, los compuestos fenólicos contenidos en la uva se encuentran principalmente unidos a azúcares y ácidos orgánicos, por lo que se pueden clasificar inicialmente en dos grandes grupos: compuestos flavonoides y no flavonoides. En los compuestos flavonoides destacan los antocianos, flavanoles y flavonoles, estos están constituidos por dos anillos de benceno conectado a través de un anillo heterogéneo de pirona C. Mientras que los no flavonoides son más diversos, pero predominan en la uva los ácidos hidroxicinámicos, ácidos hidroxibenzoicos y estilbenos (Selma *et al.*, 2009; Ozdal *et al.*, 2016; D'Amario, 2018).

Se han evaluado los compuestos fenólicos presentes en el OU, la cáscara y las semillas de la uva. Peixoto *et al.* (2018), reportaron la presencia de 28 compuestos fenólicos no antocianinos y antocianinos en una mezcla de OU, en cáscara y en semillas, respectivamente. De forma general, se encontraron en las muestras 11 flavan-3-oles (derivados de la catequina, epicatequina y proantocianinas), 7 antocianinas (derivados de malvidina, delphinidina, petunidina y peonidina), 6 flavonoles (derivados de quercetina, laricitrina y jeringatina), 2 derivados del ácido hidroxibenzoico y 2 derivados del ácido hidroxicinámico. De los cuales, el ácido *p*-cumárico (1092 µg/g de extracto) fue el compuesto predominante en la cáscara, mientras que el dímero de (epi)catequina tipo β (1467 µg/g) predominó en las semillas, siendo las semillas las que presentaron una mayor concentración de compuestos fenólicos (10,216 µg/g extracto).

Por otro lado, Ribeiro *et al.* (2015), reportaron el contenido de compuestos fenólicos de cuatro muestras de OU: Cabernet Sauvignon (*Vitis vinifera*), Merlot (*V. vinifera*), Mix (*Vitis labrusca*) y Terci (*V. labrusca*). Se observó que el contenido de compuestos fenólicos totales, flavonoides totales y antocianinas monoméricas totales fueron significativamente diferentes en todas las muestras. El orujo variedad Mix presentó el contenido más alto de compuestos fenólicos totales

(4124,46 ± 115,01 mg equivalentes de ácido gálico 100 g⁻¹) y flavonoides totales (2157 ± 10,01 mg equivalentes de catequinas, 100 g⁻¹). Mientras que la variedad Terci presentó el mayor contenido de antocianinas monoméricas totales (414,95 ± 3,37 mg cya-3-glu 100 g⁻¹). Los autores atribuyen estas diferencias a la variedad de la uva, los factores ambientales y diversas prácticas dentro de la producción de la uva. Sin embargo, se identificaron 13 antocianinas, las cuales estuvieron presentes en todas las muestras, destacando la malvidina-3-O-glucósido, malvidina-3-O-acetilglucósido y malvidina-3-Op-cumaroilglucósido. Respecto a los compuestos fenólicos no antocianínicos, se reportaron ácidos hidroxicinámicos (como el ácido gálico, ácido vainílico y ácido siríngico) y ácidos hidroxibenzoicos (como el ácido transcinámico, ácido cafeico, ácido corologénico y ácido p-cumárico), flavan-3-oles (p. ej., catequina), flavonoles (como la quercetina, rutina y kaempferol) y estilbenos (como el trans-resveratrol).

2.6. Orujo de Uva: Microbiota Intestinal y Parámetros Productivos

Las propiedades antioxidantes, antifúngicas, antibacterianas y antiinflamatorias de los polifenoles le confieren al OU gran potencial en el mejoramiento de la salud humana y animal. Sin embargo, como cualquier bioactivo, su actividad en el organismo dependerá de su biodisponibilidad en el tejido diana. Dicha biodisponibilidad depende fuertemente de la absorción y metabolismo del bioactivo en el intestino, así como también de los procesos metabólicos que ocurren posterior a la absorción a nivel tisular y celular. Por lo cual, es de gran interés e importancia evaluar la biodisponibilidad y bioactividad de los polifenoles *in vivo* (Chedea y Pop, 2016; Brenes *et al.*, 2016).

Si bien, se ha reportado en la uva la presencia de la micotoxina ocratoxina A, considerada cancerígena, esta no debería representar ningún riesgo. Esto debido a que, a pesar de ser retenida en más de un 90% en el OU, su contenido generalmente no excede el límite establecido por la Unión Europea (2 µg/kg). Esta micotoxina en la uva es ocasionada principalmente por *Aspergillus carbonarius*, pero el ambiente, la variedad de la uva y diversos factores pueden impactar en su producción (Ribeiro y Alves, 2008; Dachery *et al.*, 2019; Antoniá *et al.*, 2020).

2.6.1. Efecto en la Microbiota Intestinal y en el Comportamiento Productivo de Otras Especies

Aditya et al. (2018), evaluaron la suplementación de OU durante 28 días en niveles de 5, 7.5 y 10 g/kg, sobre el crecimiento y otros parámetros de importancia en pollos de engorde comerciales. Se reporta que la suplementación con orujo mostró un efecto significativo en la ganancia de peso corporal, por lo menos en las primeras etapas de crecimiento, además de resultar benéfico para reducir el colesterol sérico y mejorar los parámetros de la carne. Con niveles de inclusión similares, Chacar et al. (2018), evaluaron durante 14 meses el impacto de la suplementación de OU en niveles de 2.5, 5, 10 y 20 mg/kg/día en la MI de ratas y observaron un incremento en la proliferación de *Bifidobacterium* en los niveles de inclusión de 2.5 y 5. Mientras que *Lactobacillus* se vio disminuido con el tiempo en todos los tratamientos, y *Clostridium leptum* y *Enterococcus* no cambiaron con la adición del OU en comparación al testigo. De forma general, se concluyó que el OU moduló de forma selectiva la MI y podría llegar a contrarrestar los resultados adversos del envejecimiento en la población bacteriana intestinal.

Por otro lado, Kafantaris et al. (2016), reportaron el efecto de un ensilaje con 9% de OU sobre algunos marcadores del estrés oxidativo y algunas bacterias intestinales patógenas en corderos. Los animales recibieron la dieta experimental durante 55 días y se observó un incremento significativo de los mecanismos antioxidantes en sangre y tejidos, que se vio reflejado en la actividad de la catalasa (CAT) y en glutatión reducido (GSH), además de una disminución en la oxidación de lípidos y proteínas. Mientras que permitió la proliferación de bacterias probióticas facultativas e inhibió algunas patógenas como *Enterobacteriaceae* y *E. coli*.

2.6.2. Efecto en la Microbiota Intestinal y en el Comportamiento Productivo de Cerdos

Kafantaris et al. (2017), evaluaron durante 30 días el efecto de un ensilaje con 9% de OU sobre la microbiota, la productividad y la calidad de la carne al adicionarla en la dieta de cerdos a partir de los 20 días de edad. Observaron una disminución en las bacterias intestinales patógenas como

Enterobacteriaceae (hasta 1,8 log UFC/g) y *Campylobacter jejuni* (hasta 1,0 log UFC /g). Mientras que la proliferación de bacterias probióticas facultativas (hasta en 1,2 log UFC/g) y bacterias ácido-lácticas (hasta 2,0 log UFC /g) se vio beneficiada. De igual forma, los lechones alimentados con la dieta experimental mostraron un incremento en la ganancia diaria de peso del 23.65% y una disminución en el daño inducido por estrés oxidativo en lípidos y proteínas, que se vio reflejado en la medición de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS) y carbonilos de proteínas (CARB) en comparación al tratamiento control. A su vez, se reportó que la adición de OU generó cambios en la composición de ácidos grasos de la carne, disminuyendo significativamente la relación n-6/n-3, al verse incrementado el contenido de ácidos grasos omega-3, principalmente el EPA, DHA y ácido α – linolénico.

En otro estudio, Chedea et al. (2018), reportaron el contenido de polifenoles totales y el estado antioxidante en duodeno y colon de lechones alimentados con una dieta adicionada con 5% de OU durante 36 días. Se observó un incremento en el estado antioxidante total (TAS) y una disminución en la oxidación lipídica (TBARS) en duodeno y colon, mientras que incrementó la actividad de SOD en duodeno y la actividad CAT y GPx en colon. Mientras que Wang et al. (2020), también suplementaron a lechones destetados con 5% de OU en su dieta durante 4 semanas. Se observó un incremento en la proporción de *Lactobacillus delbrueckii*, *Olsenella umbonata* y *Selenomonas bovis* en el ciego, además de generar cambios significativos en la morfología del yeyuno. Adicionalmente, se observó una disminución en la producción de citocinas proinflamatorias (IL-1 β , IL-8, IL-6 y TNF- α). Si bien, no se reportaron efectos sobre los rendimientos de crecimiento de los animales, su efecto en la microbiota puede favorecer a la resistencia contra enfermedades en los lechones.

Williams et al. (2017) evaluaron el efecto de la suplementación con 5% de OU rico en polifenoles en dietas para cerdos hembras y machos de 7-8 semanas de edad, con un peso promedio de 21 kg. Reportaron que, en todos los animales experimentales, *Prevotella* fue el género que predominó en la MI, mientras que en el grupo suplementado con OU disminuyó la abundancia relativa de *Lactobacillus* y *Ruminococcus*, mientras que *Treptonema* y *Campylobacter* se vieron incrementadas. En otro estudio, Fiesel et al. (2014), suplementaron con extracto de semillas de uva y harina de OU a cerdos en crecimiento, y observaron una mejora en la relación ganancia de peso:alimento y una disminución en el recuento de *Streptococcus* spp. y *Clostridium* Cluster XIVa

en la microbiota fecal. Adicionalmente, observaron una disminución en los niveles de ácidos grasos volátiles y en la expresión de varios genes proinflamatorios.

En cuanto a cerdos en etapa de finalización, son escasos los estudios que evalúen el efecto del OU en la MI y en sus parámetros productivos. Sin embargo, debido a su gran potencial para mantener la salud intestinal, es importante llevar a cabo la evaluación de este aditivo, que posiblemente permita mantener la salud de estos animales hasta su última etapa productiva.

3. HIPÓTESIS

La adición de OU a un nivel de 2.5% en la dieta de cerdos finalizadores, promueve una MI benéfica, aumentando la abundancia relativa de los géneros *Lactobacillus* y *Faecalibacterium*, mientras que se reduce la de *Campylobacter* y *E. coli*. A su vez, propicia una mejora en el comportamiento productivo, incrementando la ganancia de peso y optimizando la conversión alimenticia.

4. OBJETIVOS

4.1. Objetivo General

Evaluar el efecto de la suplementación dietaria de 2.5% de OU sobre la microbiota intestinal y desempeño productivo de cerdos finalizadores.

4.2. Objetivos Particulares

- Evaluar los cambios en la abundancia relativa de los géneros *Lactobacillus*, *Faecalibacterium*, *Campylobacter* y *E. coli* en heces de cerdos finalizadores suplementados con orujo de uva durante 31 días.
- Evaluar la ganancia de peso, el consumo de alimento y la conversión alimenticia de cerdos finalizadores suplementados con orujo de uva durante 31 días.

5. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1. Lugar de Estudio

La prueba de alimentación se llevó a cabo en la unidad de producción porcina del Departamento de Agricultura y Ganadería de la Universidad de Sonora, Hermosillo (D.A.G UNISON). El análisis de las muestras colectadas se realizó en el Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo (CIAD).

5.2. Animales

Se utilizaron 20 cerdos macho de 128 días de edad (raza Duroc x Yorkshire) con un peso vivo promedio inicial de 80 kg, alojados individualmente en corraletas provistas de bebedero y comedero, fueron identificados mediante aretes.

5.3. Alimentación y Tratamientos

La fase de suplementación se llevó a cabo en la etapa de finalización por un periodo de 31 días, y 10 corraletas se asignaron aleatoriamente a uno de los siguientes tratamientos bajo un diseño completamente al azar: Testigo (animales recibiendo dieta basal, DB sin OU) y OU, DB + 25 g OU/ kg de alimento (aproximadamente 2.5% de orujo de uva por día). La dieta basal se formuló para cubrir los requerimientos nutricionales para la especie y etapa productiva (NRC, 2012), y fue adquirida de la empresa Kowi® que corresponde a dieta para cerdos finalizadores Fase 7; la composición del alimento se describe en el Cuadro 1. El orujo de uva de tipo industrial de variedad Tempranillo se obtuvo de una producción vinícola en Ensenada, Baja California y se suplementó en forma de harina previamente secada a 60°C (Kumanda *et al.*, 2019). La dieta fue servida en los

comederos dos veces durante el día, a las 0800 h y 1500 h. Los animales fueron alimentados ad libitum y con acceso libre al agua. La determinación de la composición proximal de la harina de OU se realizó en un laboratorio de CIAD, A.C., en cuanto a la fibra total, fibra detergente neutra (FDN) y fibra detergente ácida (FDA), fueron determinadas por un laboratorio externo AGROLAB MEXICO (Durango, Dgo, México), mientras que para la extracción de sus compuestos fenólicos se empleó la metodología y las condiciones descritas por Casagrande et al. (2019). Para la determinación de fenoles totales y flavonoides se llevaron a cabo los métodos de Folin–Ciocalteu (Singleton & Rossi, 1965) y Park *et al.*, (1998), respectivamente. Mientras que la capacidad antioxidante total se midió siguiendo la metodología descrita por Echegaray et al. (2021) para las técnicas de 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH), potencial reductor férrico (FRAP) y ácido 2, 2' Azinobis-3-etil- benzotiazolin-6 sulfónico (ABTS).

Cuadro 1. Composición y análisis proximal del alimento para cerdos finalizadores KOWI ®.

Ingredientes (Kg/ton)	Alimento
Trigo	762
Pasta de soya	170
Aceite	44
MIC*	24
Análisis proximal (%)	
Proteína	14.0
Humedad	11.9
Grasa	7.0
Fibra	2.0
ELN**	56.1

*MIC. Contiene vitaminas, minerales y aminoácidos que cubren los requerimientos de los cerdos en fase finalización de acuerdo con la NRC (2012)

**ELN. Extracto libre de nitrógeno: se consideran Carbohidratos, se obtuvo por diferencia.

5.4. Recolección de Muestras de Heces

Se recolectaron muestras de heces antes y a los 30 días posteriores a la suplementación, para la evaluación de la microbiota. Se seleccionaron cuatro animales para obtener un total de 4 muestras

de heces por tratamiento. Para su colecta, se estimuló a los animales analmente y las heces se colocaron directamente en un frasco estéril para muestras clínicas. Las muestras fueron etiquetadas y colocadas en una hielera para su transporte a los laboratorios de CIAD.

5.5. Análisis de la Microbiota

5.5.1. Extracción de ADN Genómico

Se procesaron las muestras de heces para extraer el ADN mediante el juego de reactivos comercial QIAmp Fast DNA Stool Minikit de QIAGEN (Hilden, Alemania; Cat. No. 51604), siguiendo las indicaciones establecidas por el fabricante. Se añadió a un tubo de microcentrífuga de 2 mL, 180-220 mg de heces con 1 mL de Buffer Inhibitex, se agitó en vórtex por 1 min o hasta formar una suspensión homogénea. Ésta se calentó a 70°C durante 5 min y se agitó en vórtex por otros 15 s, para centrifugarse a 14,000 rpm (Eppendorf, Centrifuge 5415 C, Westbury, N.Y) durante 1 min para lograr la sedimentación de las partículas de heces. Se conservó el sobrenadante.

En un tubo de microcentrífuga de 1.5 mL, se agregaron 15 µL de proteinasa K, 200 µL del sobrenadante y 200 µL de buffer AL, se agitó durante 15 seg y se incubó a 70 °C durante 10 min. Posteriormente, se añadieron 200 µL de etanol (96%) al lisado y se mezcló por agitación.

Se añadieron 600 µL de lisado a una columna de centrifugación del juego de reactivos comercial QIAmp y se centrifugó a 14,000 rpm durante 1 min, se descartó el filtrado. A la columna, se le añadió 500 µL de buffer AW1 y se centrifugó durante 3 min para eliminar restos del buffer. Para finalizar, se extrajo el ADN retenido en la columna adicionando 200 µL de buffer ATE directamente sobre la membrana QIAamp. Se incubó por 1 min a temperatura ambiente y se centrifugó a 14,000 rpm durante 1 min.

5.5.2. Identificación y Cuantificación de la Microbiota

Se identificaron las bacterias de interés en este estudio, empleando secuencias de iniciadores publicadas (Cuadro 2). Para la detección de los géneros *Lactobacillus*, *Faecalibacterium*, *Campylobacter*, *E. coli* y procarionta se utilizó HotStart-IT® SYBR® Green qPCR Master Mix Kit (Affymetrix; Lot. 4274886; Santa Clara, CA). Las condiciones de amplificación que se utilizaron para el kit SYBR Green fue de 95°C por 2 minutos, 95°C por 15 segundos, 60°C por 1 minuto, 95°C por 15 segundos, 60°C por 1 minuto y 95°C por 15 segundos. La amplificación se realizó en el termociclador StepOne TM (Applied BioSystems).

Para la cuantificación de los géneros bacterianos seleccionados, se determinó la abundancia relativa en función de la amplificación relativa. Para el análisis se utilizó la relación entre niveles de expresión del gen de interés con respecto al de un gen de referencia, para obtener valores ΔCt (Ct gen interés – Ct gen de referencia). En donde Ct es el ciclo en el que se detecta la fluorescencia acumulada por encima del nivel umbral, lo que es inversamente proporcional a la cantidad de templado (ADN) inicial en la muestra.

Se emplearon los valores de Ct de la detección del gen 16S de procariontas como gen de referencia y el valor de Ct del género específico evaluado para obtener el valor de la amplificación relativa (Livak y Schmittgen, 2001). Los valores de abundancia relativa se obtuvieron con la siguiente ecuación: $2^{(-\Delta Ct)}$.

Cuadro 2. Secuencias de iniciadores utilizados en qPCR para el análisis de abundancia relativa de géneros y especies de la MI.

Especie	Primer	Secuencia 5' - 3'	Referencia
Procariontas	F_Bact1369	CGGTGAATA CGT TCC CGG	Furet <i>et al.</i> , 2009
	R_Prok1492	TAC GGC TAC CTT GTT ACG ACT T	
<i>Lactobacillus</i> (391bp)	F_Lacto 05	AGC AGT AGG GAA TCT TCC A	Furet <i>et al.</i> , 2009
	R_Lacto 04	CGC CAC TGG TGT TCY TCC ATA TA	
<i>Faecalibacterium</i> (<i>F. prausnitzii</i>)	FPR-1F	AGATGGCCTCGCGTCCGA	Halmos <i>et al.</i> , 2015
	FPR-2R	CCGAAGACCTTCTTCTCC	
<i>Campylobacter</i>	Campi_F	GGATGACACTTTTCGGAG	Rinttilä <i>et al.</i> , 2004
	Campi_R	AATTCCATCTGCCTCTCC	
<i>E. coli</i>	E.coli F	CAT GCC GCG TGT ATG AAG AA	Huijsdens <i>et al.</i> , 2002
	E.coli R	CGG GTA ACG TCA ATG AGC AA	

5.6. Evaluación del Comportamiento Productivo

5.6.1 Ganancia de Peso

Los cerdos fueron pesados al inicio (d-0) y final (d-31) del periodo experimental con ayuda de una báscula porcina desmontable Dibatec mini. La ganancia diaria de peso se obtuvo mediante la diferencia entre el peso final y el inicial, divididos entre los 31 días de experimentación.

5.6.2. Consumo de Alimento

Se pesó diariamente el alimento ofrecido a los cerdos y el residuo diario o alimento rechazado. El consumo de alimento diario se determinó por diferencia entre el alimento ofrecido y el rechazado. El pesaje del alimento se realizó con una báscula industrial Dibatec, mientras que el residuo se pesó con una báscula comercial Dibatec.

5.6.3. Conversión de Alimento

La conversión de alimento se calculó dividiendo el consumo de alimento promedio diario, entre la ganancia de peso promedio diaria, para cada uno de los corrales.

5.7. Diseño Experimental y Análisis Estadístico

Inicialmente, mediante estadística descriptiva univariada se realizaron pruebas de hipótesis para confirmar la normalidad de los datos y homogeneidad de varianza, y de acuerdo con el resultado, se determinó a la media como el mejor estimador.

Posteriormente, los datos se analizaron mediante un ANOVA de una vía para un diseño completamente al azar, usando como covariable para las variables de respuesta del desempeño productivo el peso vivo inicial de los cerdos, mientras que, para los valores de abundancia relativa, se usó como covariable en el modelo a la abundancia relativa inicial. El análisis de los datos se realizó en el paquete estadístico NCSS versión 2020, considerando una $p \leq 0.05$ como significativa.

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1. Composición Química y Capacidad Antioxidante de la Harina de OU

El análisis proximal, contenido de fenoles y capacidad antioxidante del orujo de uva se reporta en el cuadro 3. Es importante destacar, que el orujo de uva utilizado en este estudio presentó un contenido de fibra cruda del 24.12%, de los cuales la FDA y la FDN representan un 40.48% y 28.43%, de ese porcentaje respectivamente. Además, su contenido de fenoles totales fue de 20.81 ± 0.7 mg EAG/g, mientras que de flavonoides un contenido de 11.3 ± 2.12 mg EC/g. Respecto a su capacidad antioxidante por las técnicas de FRAP, TEAC y DPPH, esta fue de 104.74 ± 8.8 , 139.4 ± 3.57 , 114.82 ± 2.26 μ M ET/g, respectivamente.

Estudios como el de Taranu et al. (2020), en donde suplementaron 8% de harina de semilla de uva en la dieta de cerdos destetados con el objetivo de contrarrestar el efecto hepatotóxico de aflatoxinas, reportan un contenido de fenoles totales de 795 mg EAG/L (0.795 mg EAG/g) en la harina. Si bien, su contenido de fenoles es mucho menor a lo reportado en nuestro estudio, ellos observaron una mejora en el estrés oxidativo. Mientras que Taranu et al. (2017), suplementaron durante 24 días a cerdos finalizadores con un 5% de harina de semilla de uva, la cual, mostró un contenido de fenoles totales de 53.55 mg EAG/g, donde predominaron principalmente flavanoles y antocianinas, además, reportan mediante DPPH una actividad antioxidante de 32.70 μ M ET/g. Sin embargo, la suplementación no incrementó el estado antioxidante y no mostró efecto en el rendimiento de crecimiento de los animales. Además, reportan que la harina de semilla de uva presentó por cada 100 g, un contenido de proteína bruta de 10.61 g y 40.66 g de fibra bruta, lo que indica un menor contenido de proteína y mayor contenido de fibra, en comparación al orujo utilizado en nuestro estudio. Por otro lado, Kafantaris et al. (2017), suplementaron un ensilaje con 9% de orujo en la dieta de lechones destetados con 20 días de edad y reportaron la actividad antioxidante y el contenido de fenoles totales de toda la dieta ya adicionada con el orujo. Dicha dieta presentó por DPPH una actividad antioxidante de 9.8 mg/ml y un contenido de fenoles totales de 0.82 mg EAG/g.

Como se puede observar, el contenido de fenoles totales, la capacidad antioxidante y algunos aspectos de la composición proximal como el contenido de fibra en el orujo de uva, pueden variar

si éste es adicionado como harina, ensilado o bien, si está hecho a partir de varios componentes de la uva o solo alguno de ellos, como la semilla, ya que de esto depende su efecto en MI y también en los parámetros productivos.

Cuadro 3. Análisis proximal, contenido de fenoles y capacidad antioxidante del orujo de uva.

Análisis proximal (%)*	Orujo de Uva
Proteína	13.42 ± 0.02
Humedad	7.88 ± 0.043
Grasa	7.61 ± 0.15
Fibra Cruda**	24.12
Fibra en Detergente Acido (FDA)	40.48
Fibra en Detergente Neutral (FDN)	28.43
Fibra en Detergente Neutral, libre de cenizas	31.09
Ceniza	6.98
FRAP¹	104.74 ± 8.8
TEAC¹	139.4 ± 3.57
DPPH¹	114.82 ± 2.26
FT²	20.81 ± 0.7
Flavonoides²	11.3 ± 2.12

* Official Methods of Analysis of Chemists, AOAC International, Ed 18th, 2005.

** AGROLAB Mexico S.A. de C.V.

¹ Capacidad antioxidante (µM ET/g). ET= Equivalentes de trolox.

² FT: Fenoles totales (mg EAG/g); Flavonoides (mg EC/g). EAG: Equivalentes de ácido gálico, EC: Equivalentes de catequina,

6.2. Evaluación del Comportamiento Productivo

Los valores medios de cada tratamiento referentes al peso inicial, peso final, ganancia de peso diaria, ganancia de peso durante los 30 días experimentales, consumo de alimento diario y conversión alimenticia durante los 31 días experimentales, se presentan en el Cuadro 4. Se observó que no hubo diferencias ($p > 0.05$) en el peso inicial (d-0) entre el grupo testigo (80.08 ± 2.70 kg) y el grupo orujo de uva (80.04 ± 2.70 kg). Esto demuestra que la aleatorización se hizo correctamente y de esta manera en ambos tratamientos, los animales partieran del mismo punto, y así, hace más evidente el posible efecto del aditivo. Se presentó un peso final mayor ($p < 0.05$) en los animales

suplementados con el OU, reportándose un peso medio de 119.55 ± 2.4 kg, con relación al grupo testigo, donde se presentó un peso de 115.37 ± 2.60 kg.

La suplementación con orujo de uva mostró un efecto positivo en la ganancia de peso diaria y de la ganancia de peso total, presentando una ganancia de peso diaria promedio de 1.27 ± 0.03 y una ganancia total de 39.50 ± 1.13 kg, ambas significativamente mayores ($p < 0.05$) en comparación al grupo testigo. Por otro lado, el consumo de alimento diario también fue mayor ($p < 0.05$) en los animales suplementados con orujo, presentado un consumo medio de 3.41 ± 0.07 . Sin embargo, la suplementación no tuvo un efecto significativo ($p > 0.05$) sobre la conversión alimenticia, ya que, si bien benefició la ganancia de peso, también incrementó el consumo de alimento. Este incremento en el consumo de alimento es un indicador del potencial que tiene el orujo de uva en la mejora de la palatabilidad del alimento.

Si bien, son escasos los estudios que evalúan el efecto del orujo de uva en el comportamiento productivo de cerdos en la etapa de finalización, existen estudios donde reportan su efecto en etapas de producción más tempranas, sin embargo, resultan contrastantes entre ellos y con nuestros resultados. Estudios como el de Chedea et al. (2018), en donde suplementaron 5% de orujo de uva a lechones recién destetados durante 36 días, reportan un incremento en el consumo de alimento diario promedio, pero no un efecto en la ganancia de peso. Mientras que estudios como el de Kafantaris et al. (2017), en donde evaluaron la suplementación de un ensilaje con 9% de orujo de uva durante 30 días como aditivo alimentario en la dieta de lechones destetados con 20 días de edad, si observaron un incremento del 23.65% en la ganancia de peso promedio a lo largo de todo el periodo experimental con relación al testigo. Dicho porcentaje, representa una diferencia de 0.044 kg/día, ya que se presentó una ganancia de peso promedio de 0.186 ± 0.01 kg/día en el control y 0.230 ± 0.01 kg/día en el grupo suplementado con orujo. Además de observar que, con la suplementación, el consumo de alimento promedio fue significativamente mayor a los 35 a 50 días de edad, mientras que la conversión alimenticia fue significativamente más baja a los 20 a 35 días de edad. En cerdos lechones el orujo de uva presentó una ganancia de peso promedio diaria mayor, 0.044 kg/día más con relación al control; mientras que, en el presente trabajo en cerdos finalizadores, dicha diferencia fue de 0.27 kg/día.

Por otro lado, los estudios de Hao et al. (2015) y Wang et al. (2020), en donde suplementaron con procianidinas de semilla de uva (en concentraciones de 50, 100, 150 mg/kg) y con 5% de orujo de uva, respectivamente, durante 4 semanas a cerdos destetados, no reportan un efecto en el comportamiento productivo. En ambos estudios, la suplementación no ejerció ningún efecto en la

ganancia de peso, en el consumo de alimento, ni en la conversión alimenticia. Así también, en el estudio de Sehm et al. (2011), en donde suplementaron durante 19 días a lechones de 31 días de edad con 3.5% de orujo de uva, no se reportan cambios significativos en la ingesta de alimento y la ganancia de peso diaria promedio con relación al control.

Si bien, en el presente estudio, la inclusión de 25 g OU/ kg no presentó un aumento significativo en la conversión alimenticia de cerdos finalizadores respecto al control, si mostró un efecto en el consumo de alimento y en la ganancia de peso, incrementando un 10% y un 9.93%, respectivamente. Considerando que la alimentación puede representar hasta el 70% de los costos totales de producción (Pomar y Remus, 2019), la utilización de orujo de uva podría mitigar dichos costos al acortar los tiempos de producción, permitiendo que el animal alcance el peso de mercado antes de tiempo y reduciendo así también los costos de su mantenimiento.

Cuadro 4. Comportamiento productivo (media \pm error estándar) de cerdos alimentados con dieta testigo y con dieta experimental.

	Testigo	Orujo de uva
Peso Inicial (d-0), kg.	80.08 ^a \pm 2.70	80.04 ^a \pm 2.70
Peso Final (d-31), kg.	115.37 ^a \pm 2.60	119.55 ^b \pm 2.4
Ganancia de Peso Diaria, kg.	1.15 ^a \pm 0.03	1.27 ^b \pm 0.03
Ganancia de Peso 31 días, kg.	35.93 ^a \pm 1.19	39.50 ^b \pm 1.13
Consumo de Alimento, kg.	3.10 ^a \pm 0.07	3.41 ^b \pm 0.07
Conversión Alimenticia	2.68 ^a \pm 0.09	2.70 ^a \pm 0.08

^{ab} Medias con diferente literal dentro de hilera, indican diferencia ($p < 0.05$).

6.3. Evaluación de la Microbiota Intestinal

A partir de muestras de heces, se determinó mediante análisis de qPCR la presencia y la abundancia relativa de los géneros *Lactobacillus*, *Faecalibacterium*, *Campylobacter* y *E. coli*. Estos géneros, fueron seleccionados en este estudio con el objetivo de evaluar de forma representativa el efecto del OU sobre la MI. Lo anterior, debido a que en estudios previos, como el de Williams et al. (2017), Kafantaris et al. (2016), Kafantaris et al. (2017) y Wang et al. (2020), realizados en otros

animales y en cerdos en etapas más tempranas, se reporta la influencia del orujo sobre estos géneros bacterianos, por lo que pueden ser considerados especies indicadoras. Tanto *Lactobacillus* como *Faecalibacterium*, se han visto asociadas a una mejora en la salud intestinal, en el aprovechamiento de los nutrientes y en el comportamiento productivo, mientras que *Campylobacter* y *E. coli* son comúnmente asociadas a problemas infecciosos. Los cuatro géneros de interés estuvieron presentes en los animales de ambos tratamientos al inicio (d-0) del periodo experimental sin mostrar diferencias en su abundancia relativa ($p>0.05$) (Cuadro 5). Lo cual, muestra una microbiota similar entre tratamientos al iniciar la suplementación, por lo que podemos decir que los animales partieron del mismo punto, lo que nos permitió reducir algún posible sesgo y evaluar con mayor certeza el efecto de la suplementación en la MI.

Cuadro 5. Abundancia relativa de los géneros bacterianos de interés al día 0.

	Abundancia relativa*	
	Control	Orujo de Uva
<i>Lactobacillus</i>	0.00049426 ^a ± 0.0003367267	0.00123080 ^a ± 0.0008233952
<i>Faecalibacterium</i>	0.00050481 ^a ± 0.0003652349	0.00133772 ^a ± 0.0006763297
<i>Campylobacter</i>	0.00017669 ^a ± 0.0001146009	0.00034367 ^a ± 0.0003020974
<i>E. coli</i>	0.00233608 ^a ± 0.002305559	0.00568965 ^a ± 0.008320491

* La abundancia relativa se expresa en unidades relativas de amplificación.

^a Medias con la misma literal dentro de hilera, son iguales ($p>0.05$).

El comportamiento que mostró la abundancia relativa de los géneros de interés al transcurrir el periodo experimental independientemente del tratamiento se observa en la Figura 1. Al concluir la suplementación, la abundancia relativa de *Lactobacillus* y *E. coli* no mostró un cambio ($p>0.05$) en comparación con su abundancia previa a la suplementación, esto tanto en el grupo testigo como en el suplementado con OU. En cuanto a *Faecalibacterium*, disminuyó ($p<0.05$) en ambos tratamientos al transcurrir el periodo experimental. Mientras que *Campylobacter* disminuyó ($p<0.05$) en el grupo control y se mantuvo sin diferencias ($p<0.05$) en el grupo suplementado con OU. Estudios como el de Luo et al. (2022), reportan que los géneros *Lactobacillus* y *Faecalibacterium* son de los más abundantes durante el crecimiento del cerdo. Sin embargo, *Lactobacillus* es de los más abundantes y mayormente asociado a la etapa de lactancia, mientras que *Faecalibacterium* es de las predominantes en la etapa de crecimiento, pero no en la de

finalización, lo que sugiere que estos dos géneros disminuyen conforme el animal se acerca a la finalización. Mientras que el género *Escherichia*, se reporta presente en todas las etapas de vida, principalmente en la lactancia. Lo anterior, podría explicar el comportamiento de estos géneros a través del tiempo independientemente de la suplementación en el presente trabajo. En cuanto a *Campylobacter*, al igual que *E. coli*, se ha observado su presencia en diversas etapas de vida del cerdo, principalmente en la lactancia, durante la transición hacia un alimento sólido y durante el crecimiento, siendo *Campylobacter coli* y *Campylobacter jejuni* las de mayor prevalencia (Young *et al.*, 2000; Alter *et al.*, 2005; De Rodas *et al.*, 2018). Si bien, este género puede estar presente en diferentes etapas de vida, se ha observado que su abundancia relativa incrementa en cerdos desafiados por *E. coli* (Kaevska *et al.*, 2016).

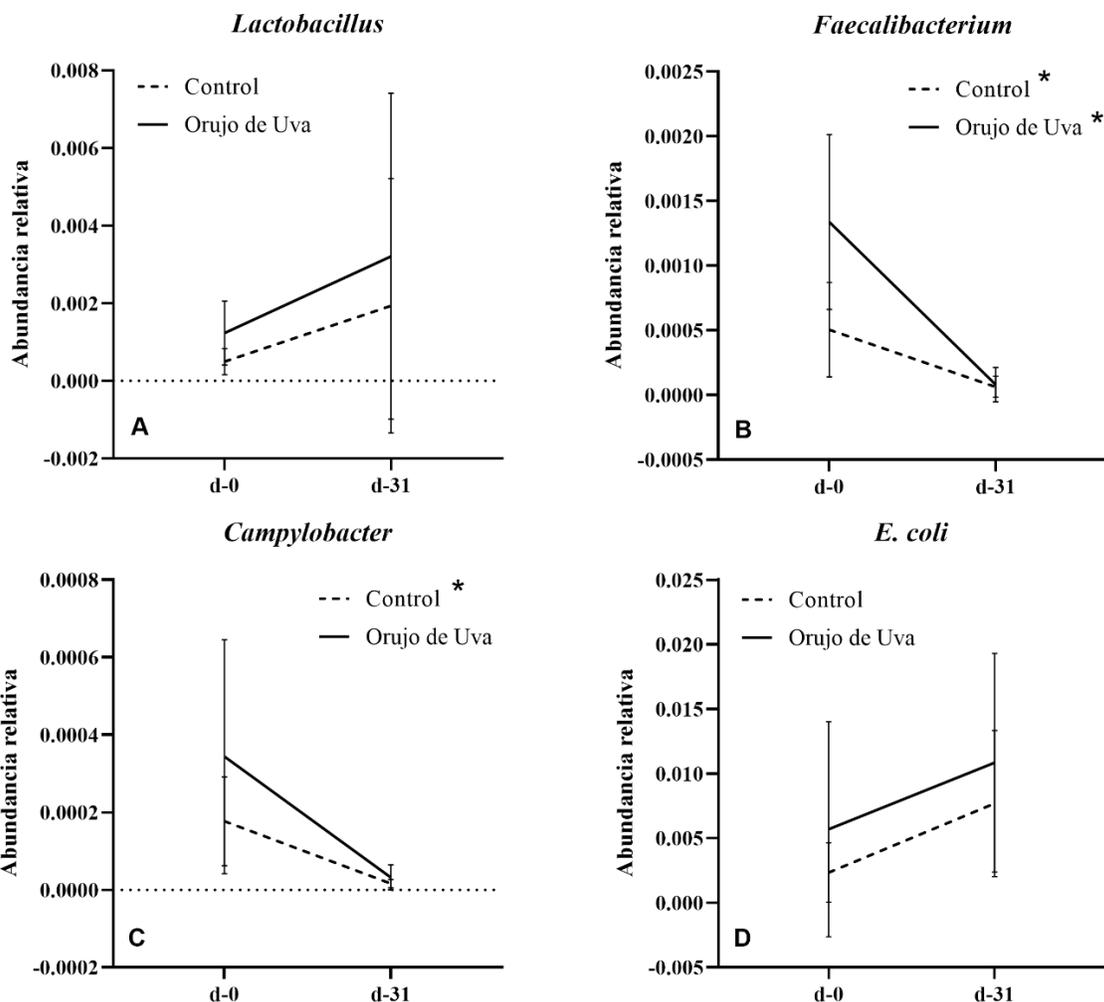


Figura 1. Comportamiento de la abundancia relativa de los géneros bacterianos de interés del día 0 al día 31. *Se comparó estadísticamente la abundancia relativa del día 0 con la del día 31, para cada género de interés en ambos tratamientos, considerando una $p < 0.05$ como significativa.

En cuanto al efecto de la suplementación de OU en los géneros estudiados, no se observó efecto ($p > 0.05$) en la abundancia relativa de *Lactobacillus*, *Faecalibacterium* y *E. coli*, con relación al tratamiento control; mientras que la de *Campylobacter* se vio incrementada ($p < 0.05$) (Figura 1; Figura 2).

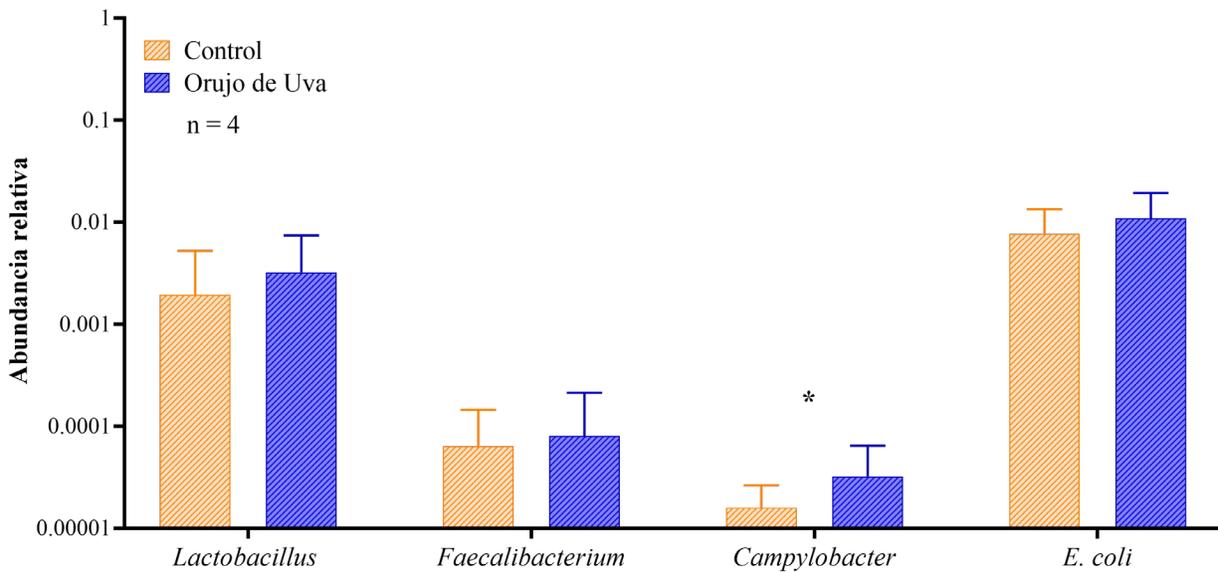


Figura 2. Abundancia relativa de los géneros bacterianos al final de la suplementación. La abundancia relativa se obtuvo de cuatro animales por tratamiento seleccionados aleatoriamente y se representaron en Log₁₀. *La diferencia entre tratamientos fue evaluada por ANCOVA, considerando las abundancias relativas previas a la suplementación como covariante.

Estudios como el de Million et al. (2012), indican que varias de las especies pertenecientes al género *Lactobacillus* están asociadas a la ganancia de peso tanto en humanos como en animales, además, poseen un efecto probiótico por lo que son consideradas parte de la MI benéfica. En cerdos sanos, se ha observado que *Lactobacillus* es uno de los principales géneros, además se ve incrementado en el ciego y heces de cerdos que presentan una mayor eficiencia alimenticia (Valeriano et al., 2016; Yang et al., 2017; Bergamaschi et al., 2020). En el presente trabajo, la adición de OU no tuvo un efecto en la abundancia relativa de *Lactobacillus* ($p > 0.05$), esto con relación al control. Si bien, la abundancia de este género usualmente disminuye posterior al destete

conforme el animal crece, se ha reportado en estudios como el de Wang et al. (2020) y Choy et al. (2014), un incremento significativo de este género al adicionar orujo o extracto de uva en dietas para lechones, por lo que se esperaba un resultado similar. Lo anterior, resulta contrastante con el estudio de Grosu et al. (2020), en donde suplementaron a cerdos destetados con peso medio de 9.13 kg con harina de semilla de uva, la cual, se asoció con la disminución de *Lactobacillus*, atribuido por los autores al tipo de compuestos fenólicos en la harina y su concentración. De igual forma, la harina de semilla de uva disminuyó la proliferación de *Faecalibacterium*, sin embargo, este género se asoció a niveles significativamente altos de butirato.

Si bien, estudios como el de Quan et al. (2020) si encuentran una asociación de este género con la eficiencia alimenticia, otros estudios como el de McCormack et al. (2019) y Niu et al. (2015) reportan una menor abundancia de *Faecalibacterium* en heces de cerdos con mayor eficiencia alimenticia. Sin embargo, al ser un productor de butirato, el cual posee actividad antiinflamatoria y se relaciona benéficamente con el aprovechamiento del alimento, además de ser *Faecalibacterium prausnitzii* ya ampliamente considerado como un probiótico de nueva generación (Almeida et al., 2020), no podemos asociar este género a una eficiencia alimenticia deficiente. Este género, es también asociado al consumo de antibióticos promotores de crecimiento y al consumo de fibra (Koh et al., 2016; Broom, 2018; Pluske y Zentek, 2019). Estudios como el de Massacci et al. (2020), reportan que el destete tardío puede también promover la proliferación de *Faecalibacterium*, permitiéndole al animal acumular una mayor abundancia de microorganismos benéficos antes del destete, y así, disminuir la disbiosis intestinal posterior a esta etapa de gran estrés y riesgo para el animal. Lo cual, hace a este género bacteriano importante de evaluar en la etapa de finalización, esperando un efecto positivo de la suplementación del OU sobre la proliferación de este género, con el objetivo de reducir problemas infecciosos en los animales y mantener una mejor salud intestinal. Sin embargo, no se observó un incremento significativo ($p>0.05$) en la abundancia de *Faecalibacterium* con la suplementación. Esto, se puede atribuir a la alta abundancia relativa de *E. coli*, en relación con los demás géneros de interés, ya que se ha observado en lechones destetados desafiados con *E. coli*, que la abundancia de *Faecalibacterium* y *Lactobacillus* se ve disminuida, mientras que *Campylobacter* incrementa (Kaevska et al., 2016), un comportamiento similar a lo observado en el presente trabajo en cerdos finalizadores.

En cuanto a *Campylobacter*, su abundancia relativa incrementó ($p<0.05$) con la suplementación de OU. En parte, similar a lo encontrado en este trabajo, Williams et al. (2017) reportan que la adición

en un 5% de OU rico en polifenoles a una dieta basal para cerdos hembra y macho de 7-8 semanas de edad, además de disminuir la abundancia relativa del género *Lactobacillus*, incrementó la de *Campylobacter*. Mientras que Kafantaris et al. (2017), evaluaron la suplementación de un ensilaje con 9% de OU durante 30 días como aditivo alimentario en la dieta de 24 lechones destetados con 20 días de edad, y observaron que *Campylobacter* si se vio disminuida. Además, mejoró el crecimiento de bacterias probióticas facultativas (hasta en 1,2 log UFC/g) y bacterias ácido-lácticas (hasta 2,0 log UFCg) significativamente. Sin embargo, en este estudio, para la evaluación del crecimiento bacteriano se incubaron previamente en medios de cultivo en incubadoras termoestables y su crecimiento se expresó en log UFC/g, lo cual podría tener menos exactitud que la determinación por alguna técnica molecular.

Bacterias patógenas, como las pertenecientes al género *Escherichia*, se han correlacionado negativamente con la ganancia de peso diaria y el peso de la canal de cerdos de engorde, mientras que cerdos más magros se reporta una menor abundancia de estas bacterias en el íleon y ciego. De igual forma, la reducción en la abundancia de bacterias patógenas se relaciona con la reducción de la inflamación intestinal (Yang et al., 2016; Torres-Pitarch et al., 2020; Gardiner et al., 2020). De hecho, *Escherichia coli* enterotoxigénica (ETEC) es el patógeno epidémico transmitido por alimentos más común que causa diarrea. La cual, es desencadenada por las adhesinas fimbriales y la enterotoxina, que promueven que las bacterias patógenas se adhieran a las células epiteliales intestinales y provoquen alteración de los electrolitos y un desequilibrio ácido-base (Fleckenstein et al., 2010; Liu et al., 2017; Bin et al., 2018). Por lo anterior, es de gran importancia encontrar alternativas alimentarias que contribuyan a mitigar la proliferación de estos patógenos y su efecto en el comportamiento productivo animal.

Se ha observado, que suplementos ricos en compuestos fenólicos, principalmente en proantocianidinas pueden actuar controlando bacterias patógenas como *E. coli*, evitando futuros problemas infecciosos en los cerdos (Verhelst et al., 2014). Sin embargo, en el presente trabajo no se presentaron cambios en la abundancia relativa ($p>0.05$) de *E. coli* con la suplementación, coincidiendo con lo reportado por Wang et al. (2020), donde reportan que si bien, *E. coli* incrementó un poco con la suplementación de OU, este incremento no fue significativo.

El efecto moderado de la suplementación de OU en la MI es principalmente atribuido al contenido y tipo de compuestos fenólicos en el orujo y su nivel de inclusión en la dieta, así como también

pudo influir la variedad de uva, el hecho de que se suplementó como una harina y la composición de esta.

7. CONCLUSIONES

La suplementación con orujo de uva en la dieta de cerdos finalizadores tuvo un efecto positivo en la ganancia de peso, además, no se encontraron diferencias en la conversión alimenticia con relación al control esto sugiere que la suplementación con orujo de uva podría ser utilizado para disminuir los tiempos de producción, permitiendo que el animal llegue más rápido al peso deseado eficientizando los costos de producción.

El orujo de uva solo mostró un efecto en *Campylobacter*, viéndose incrementada su abundancia relativa. Si bien, no se observó el comportamiento esperado en la MI, no se puede descartar que el orujo de uva tenga un efecto benéfico en la salud intestinal por efecto en otras poblaciones o géneros no evaluados en este trabajo.

8. RECOMENDACIONES

- Evaluar diferentes niveles de inclusión del orujo de uva en dietas para cerdos finalizadores.
- Evaluar el efecto del orujo de uva en diferentes géneros beneficios y patógenos de la MI de cerdos finalizadores.

9. REFERENCIAS

- Aditya S., Ohh S.J., Ahammed M. y Lohakare J. 2018. Supplementation of grape pomace (*Vitis vinifera*) in broiler diets and its effect on growth performance, apparent total tract digestibility of nutrients, blood profile, and meat quality. *Animal Nutrition*. 4(2), 210-214.
- Álvarez-Martínez F.J., Barrajon-Catalán E., Encinar J.A., Rodríguez-Díaz J.C. y Micol V. 2020. Antimicrobial capacity of plant polyphenols against gram-positive bacteria: A comprehensive review. *Current Medicinal Chemistry*. 27(15), 2576-2606.
- Álvarez-Martínez F.J., Barrajon-Catalán E., Herranz-López M. y Micol V. 2021. Antibacterial plant compounds, extracts and essential oils: An updated review on their effects and putative mechanisms of action. *Phytomedicine*. 90, 153626.
- Antonić B., Jančíková S., Dordević D. y Tremlová B. 2020. Grape pomace valorization: A systematic review and meta-analysis. *Foods*. 9(11), 1627.
- Araújo L.R.S., Watanabe P.H., Fernandes D.R., Maia I.R.O., Vieira E.H.M., Silva E.C., Trevisan M.T.S., Pinheiro R.R.S. y Freitas, E.R. 2018. Ethanol extract of mango seed is a suitable plant-based replacement for synthetic antioxidants in pig grower–finisher diets. *Animal Production Science*. 59(8), 1501-1509.
- Balbinoti T.C.V., Stafussa A.P., Haminiuk C.W.I., Maciel G.M., Sasaki G.L., Jorge L.M.D.M. y Jorge R.M.M. 2020. Addition of grape pomace in the hydration step of parboiling increases the antioxidant properties of rice. *International Journal of Food Science and Technology*. 55(6), 2370-2380.
- Bbosa T., Tamale Ndagire C., Muzira Mukisa I., Fiaboe K.K. y Nakimbugwe, D. 2019. Nutritional characteristics of selected insects in Uganda for use as alternative protein sources in food and feed. *Journal of Insect Science*. 19(6), 23.
- Benzertiha A., Kierończyk B., Kołodziejcki P., Pruszyńska-Oszmałek E., Rawski M., Józefiak D. y Józefiak A. 2020. *Tenebrio molitor* and *Zophobas morio* full-fat meals as functional feed additives affect broiler chickens' growth performance and immune system traits. *Poultry Science*. 99(1), 196-206.
- Bernad-Roche M., Bellés A., Grasa L., Casanova-Higes A. y Mainar-Jaime R. C. 2021. Effects of Dietary Supplementation with Protected Sodium Butyrate on Gut Microbiota in Growing-Finishing Pigs. *Animals*. 11(7), 2137.
- Brenes A., Viveros A., Chamorro S. y Arija I. 2016. Use of polyphenol-rich grape by-products in monogastric nutrition. A review. *Animal Feed Science and Technology*. 211, 1-17.
- Brestoff J.R. y Artis D. 2013. Commensal bacteria at the interface of host metabolism and the immune system. *Nature Immunology*. 14(7), 676-684.
- Broom, L. J. 2018. Gut barrier function: effects of (antibiotic) growth promoters on key barrier components and associations with growth performance. *Poultry Science*. 97(5), 1572-1578.
- Buffie C.G. y Pamer E.G. 2013. Microbiota-mediated colonization resistance against intestinal pathogens. *Nature Reviews Immunology*. 13(11), 790-801.

- Cao K.F., Zhang H.H., Han H.H., Song Y., Bai X.L. y Sun H. 2016. Effect of dietary protein sources on the small intestine microbiome of weaned piglets based on high-throughput sequencing. *Letters in Applied Microbiology*. 62(5), 392-398.
- Carlson M.S. y Fangman T.J. 2018. Swine antibiotics and feed additives: food safety considerations. Department of Animal Sciences, University of Missouri-Columbia.
- Casagrande M., Zanela J., Pereira D., de Lima V.A., Oldoni T.L.C. y Carpes S.T. 2019. Optimization of the extraction of antioxidant phenolic compounds from grape pomace using response surface methodology. *Journal of Food Measurement and Characterization*. 13(2):1120–1129.
- Chacar S., Itani T., Hajal J., Saliba Y., Louka N., Faivre J.F., Maroun R. y Fares N. 2018. The impact of long-term intake of phenolic compounds-rich grape pomace on rat gut microbiota. *Journal of Food Science*. 83(1), 246-251.
- Chedea V. y Pop R. 2016. Procyanidins-Bioavailability and Metabolization. ResearchGate GmbH: Berlin, Germany. 91-128.
- Chedea V.S., Palade L.M., Marin D.E., Pelmus R.S., Habeanu M., Rotar M.C., Gras M.A., Pistol G.C. y Taranu I. 2018. Intestinal absorption and antioxidant activity of grape pomace polyphenols. *Nutrients*. 10(5), 588.
- Chedea V.S., Pelmus R.S., Lazar C., Pistol G.C., Calin L.G., Toma S.M., Dragomir C. y Taranu I. 2017. Effects of a diet containing dried grape pomace on blood metabolites and milk composition of dairy cows. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 97(8), 2516-2523.
- Choy Y.Y., Quifer-Rada P., Holstege D.M., Frese S.A., Calvert C.C., Mills D.A., Lamuela-Raventos R.M. y Waterhouse A.L. 2014. Phenolic metabolites and substantial microbiome changes in pig feces by ingesting grape seed proanthocyanidins. *Food & Function*. 5(9), 2298-2308.
- Christaki E., Giannenas I., Bonos E. y Florou-Paneri P. 2020. Innovative uses of aromatic plants as natural supplements in nutrition. In *Feed Additives* (pp. 19-34). Academic Press.
- D'Amario M.A. 2018. Extracción y caracterización de compuestos bioactivos remanentes en orujos y su utilización en la industria alimentaria con fines tecnológicos (Doctoral dissertation, Universidad Nacional de Cuyo. Facultad de Ciencias Agrarias).
- Dabbou S., Gai F., Biasato I., Capucchio M.T., Biasibetti E., Dezzutto D., Meneguz M., Plachà I., Gasco L. y Schiavone A. 2018. Black soldier fly defatted meal as a dietary protein source for broiler chickens: Effects on growth performance, blood traits, gut morphology and histological features. *Journal of Animal Science and Biotechnology*. 9(1), 1-10.
- Dachery B., Hernandez K.C., Veras F.F., Schmidt L., Augusti P.R., Manfroi V., Alcaraz Zini C. y Welke J.E. 2019. Effect of *Aspergillus carbonarius* on ochratoxin A levels, volatile profile and antioxidant activity of the grapes and respective wines. *Food Research International*. 126, 108687.
- De Rodas B., Youmans B.P., Danzeisen J.L., Tran H. y Johnson T.J. 2018. Microbiome profiling of commercial pigs from farrow to finish. *Journal of Animal Science*. 96(5), 1778-1794.

- De Vries S.P., Linn A., Macleod K., MacCallum A., Hardy S.P., Douce G., ... & Everest P. 2017. Analysis of *Campylobacter jejuni* infection in the gnotobiotic piglet and genome-wide identification of bacterial factors required for infection. *Scientific Reports*. 7(1), 1-12.
- Duarte M.E. y Kim S.W. 2022. Intestinal microbiota and its interaction to intestinal health in nursery pigs. *Animal Nutrition*. 8, 169-184.
- Duarte M.E., Tyus J. y Kim S.W. 2020. Synbiotic effects of enzyme and probiotics on intestinal health and growth of newly weaned pigs challenged with enterotoxigenic F18+ *Escherichia coli*. *Frontiers in Veterinary Science*. 7, 573.
- Echegaray N., Munekata P.E.S., Centeno J.A., Pateiro M., Carballo J. y Lorenzo J.M. 2021. Total Phenol Content and Antioxidant Activity of Different Celta Pig Carcass Locations as Affected by the Finishing Diet (Chestnuts or Commercial Feed). *Antioxidants*. 10(5):1–19.
- Etxeberria U., Arias N., Boqué N., Macarulla M.T., Portillo M.P., Martínez J.A. y Milagro F.I. 2015. Reshaping faecal gut microbiota composition by the intake of trans-resveratrol and quercetin in high-fat sucrose diet-fed rats. *The Journal of Nutritional Biochemistry*. 26(6), 651-660.
- Fiesel A., Gessner D.K., Most E. y Eder K. 2014. Effects of dietary polyphenol-rich plant products from grape or hop on pro-inflammatory gene expression in the intestine, nutrient digestibility and faecal microbiota of weaned pigs. *BMC Veterinary Research*. 10(1), 1-11.
- Fitzgerald D.J., Stratford M., Gasson M.J., Ueckert J., Bos A. y Narbad A. 2004. Mode of antimicrobial action of vanillin against *Escherichia coli*, *Lactobacillus plantarum* and *Listeria innocua*. *Journal of Applied Microbiology*. 97(1), 104-113.
- Fouhse J.M., Zijlstra R.T. y Willing B.P. 2016. The role of gut microbiota in the health and disease of pigs. *Animal Frontiers*. 6, 30–36.
- Frese S.A., Parker K., Calvert C.C. y Mills D.A. 2015. Diet shapes the gut microbiome of pigs during nursing and weaning. *Microbiome*. 3(1), 1-10.
- Furet J.P., Firmesse O., Gourmelon M., Bridonneau C., Tap J., Mondot S., Doré J. y Corthier G. 2009. Comparative assessment of human and farm animal faecal microbiota using real-time quantitative PCR. *FEMS Microbiology Ecology*. 68(3), 351-362.
- Gadde U., Kim W.H., Oh S.T. y Lillehoj H.S. 2017. Alternatives to antibiotics for maximizing growth performance and feed efficiency in poultry: a review. *Animal Health Research Reviews*. 18(1), 26-45.
- Galassi G., Mason F., Rapetti L., Crovetto G.M. y Spanghero M. 2019. Digestibility and metabolic utilisation of diets containing chestnut tannins and their effects on growth and slaughter traits of heavy pigs. *Italian Journal of Animal Science*. 18(1), 746-753.
- Giannenas I., Bonos E., Christaki E. y Florou-Paneri P. 2018. Oregano: a feed additive with functional properties. In *Therapeutic Foods* (pp. 179-208). Academic Press.
- Gresse R., Chaucheyras-Durand F., Fleury M.A., Van de Wiele T., Forano E. y Blanquet-Diot S. 2017. Gut microbiota dysbiosis in postweaning piglets: understanding the keys to health. *Trends in Microbiology*. 25(10), 851-873.
- Guevarra R.B., Hong S.H., Cho J.H., Kim B.R., Shin J., Lee J.H., Kang B.N., Kim Y.H., Wattanaphansak S., Isaacson R.E., Song M. y Kim H.B. 2018. The dynamics of the piglet

- gut microbiome during the weaning transition in association with health and nutrition. *Journal of Animal Science and Biotechnology*. 9(1), 1-9.
- Halmos E.P., Christophersen C.T., Bird A.R., Shepherd S.J., Gibson P.R. y Muir J.G. 2015. Diets that differ in their FODMAP content alter the colonic luminal microenvironment. *Gut*. 64(1), 93-100.
- Han G.G., Lee J.Y., Jin G.D., Park J., Choi Y.H., Chae B.J., Kim E.B. y Choi Y. J. 2017. Evaluating the association between body weight and the intestinal microbiota of weaned piglets via 16S rRNA sequencing. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 101(14), 5903-5911.
- Hashemi S.R. y Davoodi H. 2011. Herbal plants and their derivatives as growth and health promoters in animal nutrition. *Veterinary Research Communications*. 35(3), 169-180.
- Herranz-López M., Losada-Echeberría M. y Barrajon-Catalán E. 2018. The multitarget activity of natural extracts on cancer: Synergy and xenohormesis. *Medicines*. 6(1), 6.
- Holman D.B., Brunelle B.W., Trachsel J. y Allen H.K. 2017. Meta-analysis to define a core microbiota in the swine gut. *MSystems*. 2(3), e00004-17.
- Huijsdens X.W., Linskens R.K., Mak M., Meuwissen S.G., Vandenbroucke-Grauls C.M. y Savelkoul P.H. 2002. Quantification of bacteria adherent to gastrointestinal mucosa by real-time PCR. *Journal of Clinical Microbiology*. 40(12), 4423-4427.
- INTA e INATEC. 2010. Manejo Sanitario Eficiente de los Cerdos. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Roma, Italia.
- Isaacson R. y Kim H.B. 2012. The intestinal microbiome of the pig. *Animal Health Research Reviews*. 13(1), 100.
- Islam M.M. y Yang C.J. 2017. Efficacy of mealworm and super mealworm larvae probiotics as an alternative to antibiotics challenged orally with *Salmonella* and *E. coli* infection in broiler chicks. *Poultry Science*. 96(1), 27-34.
- Janssen, P. H. y Kirs, M. 2008. Structure of the archaeal community of the rumen. *Applied and Environmental Microbiology*. 74(12), 3619-3625.
- Kaevska M., Lorencova A., Videnska P., Sedlar K., Provaznik I. y Trckova M. 2016. Effect of sodium humate and zinc oxide used in prophylaxis of post-weaning diarrhoea on faecal microbiota composition in weaned piglets. *Veterinárni Medicína*. 61(6), 328-336.
- Kafantaris I., Kotsampasi B., Christodoulou V., Kokka E., Kouka P., Terzopoulou Z., Gerasopoulos K., Stagos D., Mitsagga D., Giavasis I., Makri S., Petrotos K. y Kouretas D. 2016. Grape pomace improves antioxidant capacity and faecal microflora of lambs. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*. 101(5), e108-e121.
- Kafantaris I., Stagos D., Kotsampasi B., Hatzis A., Kyriotakis A., Gerasopoulos K., Makri S., Goutzourelas N., Mitsagga C., Giavasis I., Petrotos K., Kokkas S., Goulas P., Christodoulou V. y Kouretas D. 2017. Grape pomace improves performance, antioxidant status, fecal microbiota and meat quality of piglets. *Animal*. 12(2), 246-255.
- Kamada N., Seo S.U., Chen G.Y. y Núñez G. 2013. Role of the gut microbiota in immunity and inflammatory disease. *Nature Reviews Immunology*. 13(5), 321-335.

- Kiarie E., Romero L.F. y Nyachoti C.M. 2013. The role of added feed enzymes in promoting gut health in swine and poultry. *Nutrition Research Reviews*. 26(1), 71-88.
- Kim H.B. y Isaacson R.E. 2015. The pig gut microbial diversity: understanding the pig gut microbial ecology through the next generation high throughput sequencing. *Veterinary Microbiology*. 177(3-4), 242-251.
- Konstantinov S.R., Awati A.A., Williams B.A., Miller B.G., Jones P., Stokes C.R., Akkermans A.D.L., Smidt H. y De Vos W.M. 2006. Post-natal development of the porcine microbiota composition and activities. *Environmental Microbiology*. 8(7), 1191-1199
- Kumanda C., Mlambo V. y Mnisi C.M. 2019. From landfills to the dinner table: Red grape pomace waste as a nutraceutical for broiler chickens. *Sustainability*. 11(7), 1931.
- Li L., Sun X., Zhao D. y Dai H. 2021. Pharmacological applications and action mechanisms of phytochemicals as alternatives to antibiotics in Pig production. *Frontiers in Immunology*. 12(1).
- Lillehoj H., Liu Y., Calsamiglia S., Fernandez-Miyakawa M.E., Chi F., Cravens R.L., Oh S. y Gay C.G. 2018. Phytochemicals as antibiotic alternatives to promote growth and enhance host health. *Veterinary Research*. 49(1), 1-18.
- Looft T., Johnson T.A., Allen H.K., Bayles D.O., Alt D.P., Stedtfeld R.D., Sul W.J., Stedtfeld T.M., Chai B., Cole J.R., Hashsham S.A., Tiedje J.M. y Stanton T.B. 2012. In-feed antibiotic effects on the swine intestinal microbiome. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 109(5), 1691-1696.
- Lourenco J.M., Hampton R.S., Johnson H.M., Callaway T.R., Rothrock Jr M.J. y Azain M.J. 2021. The effects of feeding antibiotic on the intestinal microbiota of weanling pigs. *Frontiers in Veterinary Science*. 8, 601394.
- Lourenço J.M., Seidel D.S. y Callaway T.R. 2019. Antibiotics and gut function: historical and current perspectives. *Improving Gut Health in Poultry*. 189-204.
- Luo Y., Ren W., Smidt H., Wright A.D.G., Yu B., Schyns G., ... & Chen, D. 2022. Dynamic Distribution of Gut Microbiota in Pigs at Different Growth Stages: Composition and Contribution. *Microbiology Spectrum*. e00688-21.
- Luo Y., Ren W., Smidt H., Wright A.D.G., Yu B., Schyns G., McCormack U.M., Cowieson, A.J., Yu J., He J., Yan H., Wu J., Mackie R.I. y Chen D. 2022. Dynamic Distribution of Gut Microbiota in Pigs at Different Growth Stages: Composition and Contribution. *Microbiology Spectrum*. 10(3).
- Luo, Y., Chen, H., Yu, B., He, J., Zheng, P., Mao, X., ... y Chen, D. 2017. Dietary pea fiber increases diversity of colonic methanogens of pigs with a shift from *Methanobrevibacter* to *Methanomassiliicoccus*-like genus and change in numbers of three hydrogenotrophs. *BMC Microbiology*. 17(1), 1-11.
- MacCallum A., Hardy S.P. y Everest P.H. 2005. *Campylobacter jejuni* inhibits the absorptive transport functions of Caco-2 cells and disrupts cellular tight junctions. *Microbiology*. 151(7), 2451-2458.
- Mahfuz S., Shang Q. y Piao X. 2021. Phenolic compounds as natural feed additives in poultry and swine diets: A review. *Journal of Animal Science and Biotechnology*. 12(1), 1-18.

- Mandalari G., Bennett R.N., Bisignano G., Trombetta D., Saija A., Faulds C.B., Gasson M.J. y Narbad A. 2007. Antimicrobial activity of flavonoids extracted from bergamot (*Citrus bergamia* Risso) peel, a byproduct of the essential oil industry. *Journal of Applied Microbiology*. 103(6), 2056-2064.
- Massacci, F. R., Berri, M., Lemonnier, G., Guettier, E., Blanc, F., Jarret, D., ... y Estellé, J. 2020. Late weaning is associated with increased microbial diversity and *Faecalibacterium prausnitzii* abundance in the fecal microbiota of piglets. *Animal Microbiome*. 2(1), 1-12.
- McCracken V.J. y Lorenz R.G. 2001. The gastrointestinal ecosystem: a precarious alliance among epithelium, immunity and microbiota: Microreview. *Cellular Microbiology*. 3(1), 1-11.
- Metzler-Zebeli B.U., Schmitz-Esser S., Klevenhusen F., Podstatzky-Lichtenstein L., Wagner M. y Zebeli Q. 2013. Grain-rich diets differently alter ruminal and colonic abundance of microbial populations and lipopolysaccharide in goats. *Anaerobe*. 20, 65-73.
- Million M., Angelakis E., Paul M., Armougom F., Leibovici L. y Raoult, D. 2012. Comparative meta-analysis of the effect of *Lactobacillus* species on weight gain in humans and animals. *Microbial pathogenesis*. 53(2), 100-108.
- Moeser A.J., Pohl C.S. y Rajput M. 2017. Weaning stress and gastrointestinal barrier development: Implications for lifelong gut health in pigs. *Animal Nutrition*. 3, 313–321.
- Mohammadi Gheisar M. y Kim I.H. 2018. Phytobiotics in poultry and swine nutrition—a review. *Italian Journal of Animal Science*. 17(1), 92-99.
- Montowska M., Kowalczewski P.Ł., Rybicka I. y Fornal E. 2019. Nutritional value, protein and peptide composition of edible cricket powders. *Food Chemistry*. 289, 130-138.
- Nakatani M., Inoue R., Tomonaga S., Fukuta K. y Tsukahara T. 2018. Production, absorption, and blood flow dynamics of short-chain fatty acids produced by fermentation in piglet hindgut during the suckling–weaning period. *Nutrients*. 10(9), 1220.
- National Research Council. 2012. Nutrient Requirements of Swine: Eleventh Revised Edition. *The National Academies Press*. Washington, DC. <https://doi.org/10.17226/13298>.
- Olivares-Vicente M., Sánchez-Marzo N., Encinar J.A., Cádiz-Gurrea M.D.L.L., Lozano-Sánchez J., Segura-Carretero A., Arraez-Roman D., Riva C., Barrajon-Catalán E., Herranz-López M. y Micol V. 2019. The potential synergistic modulation of AMPK by *Lippia citriodora* compounds as a target in metabolic disorders. *Nutrients*. 11(12), 2961.
- Ozidal T., Sela D.A., Xiao J., Boyacioglu D., Chen F. y Capanoglu E. 2016. The reciprocal interactions between polyphenols and gut microbiota and effects on bioaccessibility. *Nutrients*. 8(2), 78.
- Park Y.K., Ikegaki M., Abreu J.A. da S. y Alcici N.M.F. 1998. Estudo da preparação dos extratos de própolis e suas aplicações. *Food Science and Technology*. 18(3), 313–318.
- Paßlack, N., Vahjen, W. y Zentek, J. 2015. Dietary inulin affects the intestinal microbiota in sows and their suckling piglets. *BMC Veterinary Research*. 11(1), 1-8.
- Peixoto C.M., Dias M.I., Alves M.J., Calhelha R.C., Barros L., Pinho S.P. y Ferreira I.C. 2018. Grape pomace as a source of phenolic compounds and diverse bioactive properties. *Food Chemistry*. 253, 132-138.

- Pieper, R., Kröger, S., Richter, J. F., Wang, J., Martin, L., Bindelle, J., ... y Van Kessel, A. G. 2012. Fermentable fiber ameliorates fermentable protein-induced changes in microbial ecology, but not the mucosal response, in the colon of piglets. *The Journal of Nutrition*, 142(4), 661-667.
- Pinelli A., Acedo E. y Hernandez, J. 2007. Engorda de ganado porcino en confinamiento. En: A. A. Gardea Béjar, G. A. Gonzalez, I. Higuera-Ciapara, y F. Cuamea Navarro. (eds.). *Buenas practicas en la produccion de alimentos: productos pecuarios, productos agricolas, productos acuicolas, procesamiento de alimentos*. Trillas, México.
- Pluske J.R., Miller D.W., Sterndale S.O. y Turpin D.L. 2019. Associations between gastrointestinal-tract function and the stress response after weaning in pigs. *Animal Production Science*. 59(11), 2015-2022.
- Pluske, J. R. y Zentek, J. 2019. Gut nutrition and health in pigs and poultry. En Hendriks, W. H., Verstegen, M. W. A., y Babinszky, L (Eds.), *Poultry and Pig Nutrition (77.95 pp.)*. Wageningen Academic Publishers.
- Pomar C. y Remus A. 2019. Precision pig feeding: a breakthrough toward sustainability. *Animal Frontiers*. 9(2), 52-59.
- Pringsulaka O., Rueangyotchanthana K., Suwannasai N., Watanapokasin R., Amnueysit P., Sunthornthummas S., Sukkhuma S., Sarawaneeyaruk S. y Rangsiruji A. 2015. In vitro screening of lactic acid bacteria for multi-strain probiotics. *Livestock Science*. 174, 66-73.
- Rath A., Rautenschlein S., Rzeznitzeck J., Breves G., Hewicker-Trautwein M., Waldmann K.H. y von Altrock A. 2021. Impact of *Campylobacter* spp. on the Integrity of the Porcine Gut. *Animals*. 11(9), 2742.
- Ribeiro E. y Alves A. 2008. Comparative study of screening methodologies for ochratoxin A detection in winery by-products. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 391(4), 1443-1450.
- Ribeiro L.F., Ribani R.H., Francisco T.M.G., Soares A.A., Pontarolo R. y Haminiuk C.W.I. 2015. Profile of bioactive compounds from grape pomace (*Vitis vinifera* and *Vitis labrusca*) by spectrophotometric, chromatographic and spectral analyses. *Journal of Chromatography*. 1007, 72-80.
- Rinttilä T., Kassinen A., Malinen E., Krogius L. y Palva A. 2004. Development of an extensive set of 16S rDNA-targeted primers for quantification of pathogenic and indigenous bacteria in faecal samples by real-time PCR. *Journal of Applied Microbiology*. 97(6), 1166-1177.
- Rosa L.A., Moreno-Escamilla J.O., Rodrigo-García J. y Alvarez-Parrilla E. 2019. Chapter 12- Phenolic Compounds. *Postharvest Physiology and Biochemistry of Fruits and Vegetables*. Duxford: Woodhead Publishing. 253-71.
- Rossiter S.E., Fletcher M.H. y Wuest W.M. 2017. Natural products as platforms to overcome antibiotic resistance. *Chemical reviews*. 117(19), 12415-12474.
- Selma M.V. Espin J.C. y Tomas-Barberan F.A. 2009. Interaction between phenolics and gut microbiota: role in human health. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 57(15), 6485-6501.
- SIAP. 2020. Panorama agroalimentario. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera, México.

- Singleton V.L. y Rossi J.A.J. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*. 16: 44–168.
- Sneeringer S., MacDonald J.M., Key N., McBride W.D. y Mathews K. 2015. Economics of antibiotic use in US livestock production. USDA, Economic Research Report. 1(200).
- Surai P.F. 2014. Polyphenol compounds in the chicken/animal diet: from the past to the future. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*. 98(1), 19-31.
- Tan Z., Wang Y., Yang T., Ao H., Chen S., Xing K., Zhang F., Zhao X., Liu, J. y Wang, C. 2018. Differences in gut microbiota composition in finishing Landrace pigs with low and high feed conversion ratios. *Antonie Van Leeuwenhoek*. 111(9), 1673-1685.
- Tan Z., Wang Y., Yang T., Xing K., Ao H., Chen S., Zhang F., Zhao X., Liu, J. y Wang, C. 2017. Differentially expressed genes in the caecal and colonic mucosa of Landrace finishing pigs with high and low food conversion ratios. *Scientific reports*. 7(1), 1-11.
- Taranu I., Hermenean A., Bulgaru C., Pistol G.C., Ciceu A., Grosu I.A. y Marin D.E. 2020. Diet containing grape seed meal by-product counteracts AFB1 toxicity in liver of pig after weaning. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 203, 110899. doi:10.1016/j.ecoenv.2020.110899
- Tzounis X., Vulevic J., Kuhnle G.G., George T., Leonczak J., Gibson G.R., Kwik-Urbe C. y Spencer J.P. 2008. Flavanol monomer-induced changes to the human faecal microflora. *British Journal of Nutrition*. 99(4), 782-792.
- Upadhyay U.P.P.D.D. y Vishwa P.C.V. 2014. Growth promoters and novel feed additives improving poultry production and health, bioactive principles and beneficial applications: the trends and advances-a review. *International Journal of Pharmacology*. 10(3), 129-159.
- Valenzuela-Grijalva N.V., Pinelli-Saavedra A., Muhlia-Almazan A., Domínguez-Díaz D. y González-Ríos H. 2017. Dietary inclusion effects of phytochemicals as growth promoters in animal production. *Journal of Animal Science and Technology*. 59(1), 1-17.
- Valenzuela-Grijalva N.V., Pinelli-Saavedra A., Muhlia-Almazan A., Domínguez-Díaz D. y González-Ríos H. 2017. Dietary inclusion effects of phytochemicals as growth promoters in animal production. *Journal of Animal Science and Technology*, 59(1), 1-17.
- Valverde V. 2020. Inclusión de subproductos de pulpa de cítricos en dietas de cerdos de cebo: rendimientos productivos y estudio de la salud intestinal (Tesis de pregrado). Universitat Politècnica de València, España.
- Verhelst R., Schroyen M., Buys N. y Niewold T. 2014. Dietary polyphenols reduce diarrhea in enterotoxigenic *Escherichia coli* (ETEC) infected post-weaning piglets. *Livestock Science*. 160, 138-140.
- Vuolo M.M., Lima V.S. y Junior M.R.M. 2019. Phenolic compounds: Structure, classification, and antioxidant power. In *Bioactive compounds* (pp. 33-50). Woodhead Publishing.
- Wang R., Yu H., Fang H., Jin Y., Zhao Y., Shen J., ... y Zhang, J. 2020. Effects of dietary grape pomace on the intestinal microbiota and growth performance of weaned piglets. *Archives of Animal Nutrition*. 74(4), 296-308.

- Williams A.R., Krych L., Fauzan Ahmad H., Nejsum P., Skovgaard K., Nielsen D.S. y Thamsborg S.M. 2017. A polyphenol-enriched diet and *Ascaris suum* infection modulate mucosal immune responses and gut microbiota composition in pigs. *PLoS One*. 12(10), e0186546.
- World Health Organization. (2012). The evolving threat of antimicrobial resistance : options for action. World Health Organization. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/44812>
- Xiao L., Estellé J., Kiilerich P., Ramayo-Caldas Y., Xia Z., Feng Q., ... y Wang, J. 2016. A reference gene catalogue of the pig gut microbiome. *Nature Microbiology*. 1(12), 1-6.
- Yang F., Hou C., Zeng X. y Qiao S. 2015. The use of lactic acid bacteria as a probiotic in swine diets. *Pathogens*. 4(1), 34-45.
- Yang X.N., Khan I. y Kang S.C. 2015. Chemical composition, mechanism of antibacterial action and antioxidant activity of leaf essential oil of *Forsythia koreana* deciduous shrub. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*. 8(9), 694-700.
- Zhang Z., Tun H.M., Li R., Gonzalez B.J., Keenes H.C., Nyachoti C.M., Kiarie E. y Khafipour E. 2018. Impact of xylanases on gut microbiota of growing pigs fed corn-or wheat-based diets. *Animal Nutrition*. 4(4), 339-350.
- Zwirzitz B., Pinior B., Metzler-Zebeli B., Handler M., Gense K., Knecht C., ... y Mann, E. 2019. Microbiota of the gut-lymph node axis: depletion of mucosa-associated segmented filamentous bacteria and enrichment of *Methanobrevibacter* by colistin sulfate and linco-spectin in pigs. *Frontiers in Microbiology*. 10, 599.