



Influencia de cepas bacterianas y condiciones de incubación en la viabilidad y calidad de ensilados biológicos para su uso en la producción animal

Influence of bacterial strains and incubation conditions on the viability and quality of biological silage for use in animal production

Yicson Javier Arevalo Aguirre¹; Javier Querevalú Ortiz¹; Gloria María Ochoa Mogollón¹; Héctor Sánchez Suárez^{2,*}

1 Escuela de Agroindustrias, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Tumbes, Av. Panamericana Norte S/N, Pampa de la gallina, Tumbes, Perú.

2 Grupo de investigación Biotecnología sustentable en alimentos y salud animal en Medicina Veterinaria y Zootecnia, de la Universidad Nacional de Tumbes, Av. Universitaria S/N, Las flores, Tumbes, Perú.

* Autor corresponsal: hsanchezs@untumbes.edu.pe (H. Sánchez Suárez).

ID ORCID de los autores

J. Querevalú Ortiz:  <https://orcid.org/0000-0001-5411-3586>

G. M. Ochoa Mogollón:  <https://orcid.org/0000-0003-4698-0078>

H. Sánchez Suárez:  <https://orcid.org/0000-0003-2395-5056>

RESUMEN

El objetivo de este estudio fue determinar la viabilidad del ensilado biológico (EB) utilizando dos cepas BAL nativas de gallina o cerdos, identificadas molecularmente, como materia prima residuos del fileteo (Rp) *Chelidonichthys obscurus* o *Diplectrum conceptione*, incubadas a temperatura ambiente (TA) o comparada con 30 °C y 40 °C. Las BALs se evaluaron bioquímicamente. Para el EB se utilizó 70% (Rp), 25% (melaza) y 5% (inóculo BAL), la viabilidad del EB se midió según el pH y porcentaje de acidez titulable (%A), (según día 3-5-10-15-30). En la incubación a TA, el EB usando *Lactobacillus brevis* del cerdo y *Enterococcus avium* de la gallina, con dos Rp, fue viable a partir del día 10. En la incubación a diferentes temperaturas, la fermentación se ve afectada a 40 °C (más rápida). La estabilidad a partir del día 10 con temperatura del EB de 32 °C, la cantidad de microorganismos BAL y los no deseables, estuvieron dentro del límite aceptable para alimento fermentados, el valor de la proteína de 33,8% a 36,7% en *D. conceptione* y 33% a 33,16% en *C. obscurus*. La materia prima y temperatura de incubación modifica el proceso y producto final donde las cepas BAL utilizadas en la incubación son indiferentes al proceso de fermentación.

Palabras clave: ensilado biológico; bacterias ácido lácticas; residuos de pescado; temperatura de incubación; estabilidad del ensilado.

ABSTRACT

The objective of this estudio was to determine the viability of biological silage (EB) using two native BAL strains of chicken or pigs, molecularly identified, as fillet residue raw material (Rp) *Chelidonichthys obscurus* or *Diplectrum conceptione*, incubated at room temperature (RT) or compared with 30 °C and 40 °C. The BALs were evaluated biochemically. For the EB, 70% (Rp), 25% (molasses) and 5% (BAL inoculum) were used. The EB viability was measured according to the pH and percentage of titratable acidity (%A), (according to day 3-5-10-15-30). In incubation at RT, EB using *Lactobacillus brevis* from pigs and *Enterococcus avium* from chickens, with two Rp, was viable from day 10. In incubation at different temperatures, fermentation is affected at 40 °C (faster). The stability from day 10 with an EB temperature of 32 °C, the amount of BAL and undesirable microorganisms, were within the acceptable limit for fermented food, the protein value from 33,8% to 36,7%. in *D. conceptione* and 33% to 33,16% in *C. obscurus*. The raw material and incubation temperature modifies the process and final product where the BAL strains used in the incubation are indifferent to the fermentation process.

Keywords: biological ensilage; lactic acid bacteria; fish residues; incubation temperature; ensilage stability.

Recibido: 05-07-2023.

Aceptado: 04-09-2023.



Esta obra está publicada bajo la licencia [CC BY 4.0](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

INTRODUCCIÓN

El EB es una alternativa de conservación mejorada (Safari et al., 2022), se caracterizan por prolongar la vida útil de la materia prima convirtiéndola en una alternativa para la alimentación animal (Fernández et al., 2017; Mohanty et al., 2020; Ziyaei & Hosseini, 2021). El ensilado biológico (EB) utiliza mayormente bacterias ácido lácticas (BAL) nativas, en un proceso de fermentación controlada y eficiente (Lezcano et al., 2015; Nag et al., 2022), utiliza subproductos del procesamiento de aves (Eissa et al., 2022), peces e hidrobiológicos (vísceras, cabezas, colas) es considerado un proceso de hidrólisis controlada (Okoye et al., 2023), que mejora el valor nutritivo de la materia prima utilizada (Palkar, 2018; Ziyaei & Hosseini, 2021), aportan nutrientes esenciales y funcionales (Sun et al., 2023). El EB agregado a las dietas mejora la salud intestinal con propiedades funcionales, BAL productoras de feruloil esterasa, antimicrobiano, ácido láctico con alto potencial antioxidante (Guo et al., 2023), buscando BAL de alto rendimiento que mejore la nutrición animal (Okoye et al., 2023; Sajib et al., 2022), de pollos y cerdos (Castillo et al., 2019; Fernández, 2021; P. P. García et al., 2020; Shabani et al., 2019), además se puede utilizar y combinar como materia prima vegetal (Costa et al., 2024), oleaginosos, algas, pescado y otras materias orgánicas (Castillo-Mercado et al., 2020; Rathod & Kairam, 2018). El EB es una buena alternativa de bioconservación (Nag et al., 2022).

Las BAL nativas aisladas del intestino de los animales, tiene efectos bactericida (Guo et al., 2023) y fermentadora (Okoye et al., 2023), son ácido tolerante (la mayoría crece a pH entre 4 y 4,5), toleran sales y son consideradas benéficas (Rabaoui et al., 2022). Los géneros reportados son mayormente *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Pediococcus* y *Streptococcus*; que degradan glucosa (vía de glucólisis) mediante fermentación (Guo et al., 2023), pueden cultivarse, sobrevivir a condiciones semejantes al tracto digestivo y producen fermentos e hidrolizados estables para ser utilizados en la alimentación animal (Castillo-Mercado et al., 2020; Castillo et al., 2019; Sulphari et al., 2020) incluso algunos microorganismos han sido utilizados comercialmente para producir

ensilado inocuos destinados a la alimentación animal (FEEDAP et al., 2023).

En los desembarcaderos de pescado, se acostumbra a realizar labores de fileteo artesanalmente lo que genera residuos orgánicos que no tienen una disposición final inadecuada. En Puerto Pizarro, localidad ubicada en la ciudad de Tumbes, reporta de 45 000 kg de (*Diplectrum conceptione*), y otras 40 000 kg de otras especies que incluye el pescado (*Chelidonichthys obscurus*) al año (Salazar et al., 2015), que al fileteo eliminan el 40% a 50% de residuos entre vísceras, esqueleto, cabeza y piel (Rojas-Runjaic et al., 2011), consideradas fuente de nutrientes que no se aprovechan y son perecibles (Lezcano et al., 2015). Una forma de manejo y de conservación como fuente de alimento animal es convertirlos a EB.

Se conoce poco sobre las variantes en el proceso de producción del EB según la temperatura de incubación, tiempo y cepas nativas utilizadas (Calderón-Quispe, 2017; Espe & Lied 1999), como afectada en el proceso la cepa y la temperatura para obtener el EB con la cantidad adecuada de proteína y este pueda ser utilizado en la alimentación animal, el producto final de los hidrolizados para alimentación animal generalmente son modificados por acciones enzimáticas, microorganismos y temperatura (Dragunova et al. 2018; Hien et al. 2022) para tener acceso a la proteína animal, (Sharma and Verma 2019). Por otro lado, la actividad del procesamiento de productos hidrobiológicos y residuos de actividades de fileteo de pescado, generan gran volumen de residuos que pueden ser utilizados mediante técnica para obtener el EB como alternativas viables para la alimentación animal (Tsoy et al., 2020). lo cual permitiría bajar los altos costos del alimento utilizado en la producción pecuaria (Calderón-Quispe, 2017) y reemplazara a tecnologías genéticas controversiales e insumos modificados según la Unión Europea (Gödecke et al., 2018).

Buscando un proceso de fermentación del EB más eficiente, el objetivo de este estudio fue determinar el efecto del uso de diferentes BAL extraídas del tracto digestivo de gallina o cerdo como fermentadores, tiempo de incubación y dos tipos de residuos de pescado en la elaboración del EB.

METODOLOGÍA

Se colectó 12 kg de residuos del fileteo de *C. obscurus* y *D. conceptione*, en estado fresco, en Puerto Pizarro - Tumbes (coordenadas GMS 3°29'59" y 80°23'25" W 0,53 m.s.n.m.) y trasladadas al laboratorio de Cárnicos (Escuela de Agroindustrias) Universidad Nacional de Tumbes (coordenadas GMS 3°30'10" y 80°23'38" W), respetando la cadena de frío.

En la misma localidad fueron aisladas las BAL del tracto digestivo de gallina de traspatio, sacrificada humanitariamente (previo aturdimiento) y de la parte final del recto de cerdo de traspatio (50 kg de peso vivo), mediante hisopado. Las muestras se

colocaron en suero fisiológico y trasladadas en tubos cónicos estériles de 50 ml, hasta el la Facultad de Ciencias de la Salud en el Laboratorio de Biología Molecular (LBM) de la Universidad Nacional de Tumbes (Mogollón et al., 2021).

Método de preparación

Aislamiento y selección de BAL nativas

Las muestras colectadas fueron sometidas a diluciones seriadas hasta la 10^{-5} y se sembró en medio específico Agar Man, Rogosa y Sharpe (MRS) con azul de anilina al 0,013%, aislando las colonias teñidas de azul intenso para ser purificadas en el

mismo medio MRS sin azul de anilina y conservadas a -4 °C (Mogollón et al., 2021). Las cepas BAL seleccionadas se le realizaron pruebas bioquímicas como oxidasa, catalasa y generación de gas, para ser seleccionadas como fermentadoras metabólicas (MacFaddin, 2003; Salehizadeh et al., 2020; Wang et al., 2020).

Análisis Molecular de las BAL

Se realizó tomado como referencia el método estándar CTAB-DTAB utilizado por (Mogollón et al., 2021), con los primers 8F (5' AGA GTT TGA TCC TGG CTC AG 3') y 1510R (5' GGC TAC CTT GTT ACG A 3') para, el producto amplificado fue verificado por electroforesis en gel de agarosa al 1% (120 V durante 20 minutos). Para la secuenciación se preparó 10 µl de los productos de PCR y 5 µl de cada cebador universal para el gen 16S ARNr, destinados a la empresa Macrogen de Korea (Mogollón et al., 2021).

Activación de BAL y preparación de inóculo fermentador del EB

Las cepas BAL obtenidas de gallina (BAL 1) y cerdo (BAL 2), identificadas y caracterizadas fueron utilizadas independientemente para hacer dos inóculos, inicialmente se activaron sembrándolas en agar MRS, incubándolas por 48 horas a 32 °C (García et al., 2020), dos a tres colonias fueron sembradas en tubos con caldo MRS (10 ml), incubándola a 35°C por 48 horas, se determinó la concentración de células BAL en el caldo MRS, por espectrometría y densidad óptica (DO) con longitud de onda de 630 nm (Activación de BAL). Para la preparación del inóculo (yogurt), se calentó medio litro de leche entera a 85 °C por 10 minutos, dejándola enfriar hasta 40 °C, el medio litro se distribuyó en dos recipientes de 250 ml, a cada uno se le agregó independientemente un ml de BAL activada en caldo MRS y en concentración de 1 según DO, se incubó a temperatura de 40 °C por 18 horas, luego 50 ml de este producto se mezcló con un litro de leche pasteurizada y se volvió a incubar a 40 °C por 5 horas y el nuevo producto se conservó en refrigeración hasta su uso (yogurt, inóculo lácteo fermentador del EB) métodos según (Mogollón et al., 2021; Reyes-Jurado et al., 2014).

Preparación del ensilado

Los restos del fileteo de *C. obscurus* o *D. conceptione* se cocinaron por 10 minutos, luego se trituraron en un molino eléctrico para carne marca HENKEL, TC22, frecuencia de 60HZ, 0,75 KW, se utilizó 70% de esta materia prima, melaza 25% y 5% inóculo bacteriano fermentador (Castillo et al., 2019), esta mezcla se colocó en fundas plásticas de 200 g con cierre hermético dejando el 25% de espacio libre en su interior (5 fundas por tratamiento), se tuvo en cuenta para tratamiento dos tipos de residuo de pescado, tres diferentes temperaturas de incubación y dos cepa BAL.

Evaluación de parámetros del EB

Se realizó según prueba incubación a temperatura ambiente (27 °C a 32 °C), utilizando dos BAL (BAL 1 gallina, BAL 2 cerdo) y dos residuos de pescado

(*C. obscurus* o *D. conceptione*) y prueba a diferentes temperaturas de incubación, utilizando BAL de cerdo, dos residuos de pescado (*C. obscurus* o *D. conceptione*) y tres temperaturas de incubación (TA, 30 °C o 40 °C).

Se realizaron los análisis fisicoquímicos y órgano-lépticos del EB los días 3, 5, 10, 15 y 30, valor nutricional los días 3 y 30, control microbiológico en los días 15 y 30, buscando su estabilidad para ser considerado alimento proteico para cerdos (menor pH obtenido, mayor porcentaje de acidez (%A) y mayor de 20% de proteína) según (Ghosh et al., 2022). Los análisis microbiológicos y fisicoquímicos se realizaron en el (LBM) de la Universidad Nacional de Tumbes y bromatológico en laboratorio LENA de la Universidad Nacional Agraria la Molina.

Análisis fisicoquímico del EB

Se evaluó el pH, temperatura y acidez por el método de titulación con NaOH al 0,1 N (Martínez Prada, 2003).

Medición del pH

Método potenciométrico, se utilizó el equipo portátil HANNA HI 8915, por medida directa, utilizando el electrodo en cada muestra homogeneizada hasta su estabilización y lectura por 10 segundos, calibrado para cada muestra utilizando soluciones buffer de pH 4 y 7 (Castillo et al., 2019).

Medición del porcentaje de acidez titulable.

Se midió como acidez referenciada del ácido láctico, mediante la metodología de la AOAC (1998), se utilizó el hidróxido de sodio a 0,1 N para la titulación, el cambio de pH del indicador final donde fenolftaleína da un viraje de pH 8,1 +/- 0,2, como muestra se tomaron 10 gr en 50 ml de agua destilada (Castillo et al., 2019).

Análisis bromatológico del ensilado

Se utilizó 100 gr de muestra seca del EB (Balfagón et al., 2014), secado a 70 °C por 48 horas en estufa con aire circulante marca memmertem +/- 250 °C (Southgate & Greenfield, 1992), luego fue molida, tamizada y envasada para su evaluación nutricional, mediante análisis proximal de alimentos, UNALM del 2009 determinación de la humedad, método por secado en estufa, proteína cruda, método Kjeldhal, Fibra cruda por Gravimétrico con ácido-álcali (H.), análisis de lípidos, método de Soxhlet (James, 1999), determinación de minerales (calcificación en mufla), Fibra cruda por Gravimétrico con ácido-álcali (H.), extracto libre de nitrógeno (ELN), por diferencia, UNALM, 2009 (Sintagma et al., 2013).

Análisis microbiológico

Se colectó 150 g de muestra de EB de cada tratamiento (DIGESA, 2001). En una cámara de flujo laminar (Labotecgroup.com, modelo BBS - DDC) se realizó el análisis microbiológico, cada 25 g de muestra y 225 ml de agua peptonada como diluyente, se realizó diluciones seriadas hasta 10⁻⁵ en tubos cónicos, se agitó por 20 s en un vortex. De

cada muestra se retiró 100 µl para ser sembradas por extensión en superficie en placa Petri, por duplicado (Fernández-Herrero et al., 2013). Se utilizó incubado IN30 marca memmert. Se realizó el recuento de microorganismos según (Martínez, 2003), recuento total de mesófilos aerobios en medio Plate Count, recuento de BAL en medio MRS, recuento de salmonella en medio específico para salmonella, SS Agar, recuento de levaduras y mohos en el Agar Sabouraud, incubadas por 48 horas a temperatura ambiente en placa invertida (Fernández-Herrero et al., 2013).

Análisis organoléptico

Se consideró el criterio del personal de laboratorio (05 personas) para evaluar evaluaron las características como son olor, color y consistencia del EB, en forma directa, lo cual se refiere al estímulo percibido por los órganos de los sentidos

para productos fermentados (Zapata et al., 2015; Castillo et al., 2019).

Diseño y análisis estadístico

Diseño experimental, (a). Prueba incubación a temperatura ambiente, utilizando dos BAL y dos residuos de pescado, se utilizó 4 tratamientos, 3 repeticiones; (b). Prueba a diferentes temperaturas de incubación, utilizando BAL de cerdo, dos residuos de pescado y tres temperaturas de incubación, en 6 tratamientos y 3 repeticiones. Los datos del pH, acidez titulable (%A), según días de incubación y temperatura del EB, de las variables en tratamiento fueron sometidos a un análisis de varianza (ANOVA) al 95% del nivel de confianza, la determinación de medias comparativas entre tratamientos se realizó con la prueba de Tukey y análisis de regresión según software Excel.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se obtuvieron 4 cepas viables, aisladas, purificadas, caracterizadas e identificadas de BAL provenientes del tracto digestivo del cerdo y/o gallina, las características microscópicas y bioquímicas para selección de colonias fueron: teñidas de azul intenso en medio específico (Arteaga-Chávez et al., 2017), purificación en agar MRS, según método (Eyerlde, 2018; Hernández-García et al., 2019), observadas como bacillos Gram positivas (Chiang et al., 2015; Fadare et al., 2023), con crecimiento variable (Ng et al., 2015). Las BAL fueron oxidasa negativa, presentaron reacción catalasa negativa y no producían gas, características de las BAL según (Cossio et al., 2018; Fadare et al., 2023; Wang et al., 2020), resistente a concentraciones de pH 3,5 semejante a pH 3 a 3,4 y un óptimo pH 3,5 reportado (Henry et al., 2015; Vera-Mejía et al., 2018), también resistieron concentraciones al 9% NaCl y 5% sales biliares, características de BAL probióticas (Hernández-García et al., 2019; Mugwanda et al., 2023), condición encontrada en la cepas BAL estudiadas que coinciden con lo reportado por (Kern et al., 2017; Mogollon et al., 2021; Wang et al., 2020).

Evaluación del análisis molecular

Secuenciación de ADN

Las cepas BAL, *L. brevis* y *E. avium*, encontradas e identificadas molecularmente (Tabla 1), están presentes como microorganismos nativos del tracto

digestivo del gallina y cerdo (Alzahrani et al., 2022; Liu et al., 2015), pueden ser aisladas de las excretas tanto de cerdos como en aves. *E. avium* se encuentra en las excretas de los pollos (Wang et al., 2020), representa el 3,3% de todos los *Enterococcus* spp. aislados de excretas de pollo de parvadas pequeñas (Alzahrani et al., 2022), también se encuentra en otros ambientes y comúnmente en las heces del pollo (Park et al., 2017). También se identificaron en la microflora del tracto gastrointestinal de pollos vivo, mediante el MALDI TOF MS y pruebas bioquímica API 50CHL en aves (Betancur et al., 2020). Se considera como potencial probiótico y prebiótico atribuida a la producción de ácido láctico en tres cepas de *E. Avium* aisladas del rumen y del queso Motal de Irán (Hu et al., 2022; Kouhi et al., 2022). *E. Avium* aislada del tracto enterogastrointestinal de mamíferos produce bacteriocinas (Lengliz et al., 2021), también se reportan el aislamiento en excretas de humanos del *E. avium* ATCC14025 y uso como posibles probióticos, con características fisiológico-bioquímicas aceptables y productoras de hexahidrocurcumina (Niwa et al., 2021) al igual de tres cepas *E. avium* aislados de excretas de niños, (Chu et al., 2020; Wang et al., 2020), se indica que el *L. brevis* puede ser aislado de la mucosa intestinal de lechones (Feng et al., 2017), como la cepa *L. brevis* ATCC 8287 (Gebert et al., 2011; Lähteinen et al., 2014). También se aisló del tracto digestivo del pollo (Betancur et al., 2020).

Tabla 1

Identificación molecular de cepas BAL extraídas de la parte final del tracto digestivo del cerdo y de gallina

Cepas	Tamaño de secuencia (pb)	Especie identificada semejantes a	Identidad %	Nº de accesoión
BAL 01 (g)	2615	<i>Enterococcus avium</i> strain FDAARGOS 184 chromosom	99	CP024590.1
BAL 02 (c)	2717	<i>Lactobacillus brevis</i> strain UCCLB521	99	CP031208.1
BAL 03 (c)	2734	<i>Lactobacillus brevis</i> strain UCCLB556	99	CP031174.1
BAL 04 (g)	1439	<i>Lactobacillus brevis</i> strain 1976 16S	99	MT640328.1

Gallina (g), cerdo (c).

El *L. brevis* MF179529 fue utilizado como probiótico en pollos, el *L. brevis* ATCC 8287, es considerado que tiene propiedades funcionales y probiótico (Chu et al., 2020, Gebert et al., 2011, Lähäinen et al., 2014, Ostadzadeh et al., 2022). Se observó que pacientes con periodontitis y coronavirus 19 se beneficiaron al utilizar el *L. brevis* como probiótico en los tratamientos (Baindara et al., 2021, Pudgar et al., 2020), fue utilizado como probiótico descontaminante (Mushtaq et al., 2023) y con actividad antimicrobiana (Rabaoui et al., 2022). En la elaboración de yogures se utilizó el *L. brevis* ATCC 14869, *L. brevis* KU200019, *L. brevis* ATCC 14869 y *L. brevis* KU200019, los cuales almacenados a 4 °C durante 21 días presentaron un alto nivel de antioxidantes (Kariyawasam et al., 2021) y con capacidad fermentativa (Feng et al., 2017). El *L. brevis* ATCC 8287 también es considerado un potencial probiótico (Gebert et al., 2011; Lähäinen et al., 2014, Pérez et al., 2022) y es utilizado en aves (Betancur et al., 2020), el *L. brevis* MF179529 (LB) fue utilizado como probiótico para pollos de carne (Abbas et al., 2021; Noohi et al., 2020; Yang et al., 2022), con capacidad fermentativa (Song et al., 2022) y posbiótica (Liu et al., 2015; Song et al., 2022; Turner, 2018) y ser alternativas tentativas para su uso en la preparación del EB como las cepas comerciales utilizadas para este fin *P. acidilactici*, *P. pentosaceus*, *L. plantarum*, *L. buchneri*, *A. acidipropionici*, *L. buchneri* y *L. hilgardii*, para utilizarlos en ensilado de forrajes destinado a la alimentación animal (FEEDAP et al., 2023).

Evaluación del EB a temperatura ambiente.

En el Tabla 2 se midió el tiempo necesario para obtener la viabilidad del EB en el proceso de fermentación, según los valores de pH y % A, incubado a temperatura ambiente (entre 27 °C a 32 °C). Los EB inoculados con BAL se mantienen con un pH estable durante la etapa denominada de estabilidad, lo que genera condiciones ácidas que limitan la actividad y la población de microbios, y especies potencialmente peligrosas (Okoye et al., 2023), la estabilidad se dio a partir del día 5 de incubación, pH adecuado menores a 4,6, se mantuvo sin diferencia estadística hasta el día 30, valores considerado adecuado para los fermentos lácteo y otros alimentos fermentados para consumo (Ghosh et al., 2022; Ozyurt et al., 2020; Speranza et al.,

2020), el menor pH se obtuvo en el día 10 considerado como valor de estabilidad (pH 4,26 y 4,24) para ambas BAL, estos valores son semejantes a los encontrados en ensilados químicos (EQ), aunque durante su fermentación el pH se comporta en forma inversa, aumenta de pH 2 hasta 4,2 en 30 días (Raeesi et al., 2021), el pH del EB por lo general empieza de 6 a 5 y bajan hasta estabilizarse con valores menores a 4,5 a las 72 horas, los cuales son semejantes a los obtenidos (Ghosh et al., 2022) menores al pH 4,9 a los 8 días obtenidas por (Libonatti et al., 2019) y 4,5 a los 7 días (Martins et al., 2016; Shabani et al., 2021). Con respecto a la acidez (% A) hay una ligera diferencia al comparar BAL uno y dos, la primera presentó menos variaciones de acidez desde de inicio a final del proceso de fermentación, obteniendo su mayor valor al día 10 de incubación, la BAL dos presentó variaciones estadísticas durante la incubación y el mayor valor lo obtuvo a los 15 días de incubación (2,29 %A y 2,61 %A), considerado adecuados para el EB, semejantes a los obtenidos a 72 horas por (Ghosh et al., 2022), para ambos parámetros son semejantes a los obtenidos entre los días 3 a 21 del proceso de incubación de diferentes ensilados por (Ghosh et al., 2022; Libonatti et al., 2019; Lutfullah et al., 2014; Martins et al., 2016; Ozyurt et al., 2020; Raeesi et al., 2021; Shabani et al., 2021), las cepas BAL de esta familia son reportados como adecuadas para producir ensilado y reportadas con capacidad probiótica, posbiótica y fermentativo según (Baindara et al., 2021, Feng et al., 2017, Gebert et al., 2011, Kariyawasam et al., 2021, Lähäinen et al., 2014, Noohi et al., 2020, Pudgar et al., 2020), pertenece al grupo de cepas destinadas en la producción de otros ensilados, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus plantarum*, *Pediococcus acidilactici*, *Streptococcus spp.* Y *Enterococcus gallinarum* (Ozyurt et al., 2020), se puede considerar ligeramente más estable en el proceso de incubación a la BAL 2.

Al comparar el comportamiento del pH y % A, teniendo en cuenta la materia prima utilizada (*C. obscurus* o *D. conceptione*) no presentaron diferencias estadísticas durante el proceso de fermentación, considerando un valor promedio de pH 4,54 a 4,55 y 4,55 a 4,75 para cada residuo respectivamente, valores adecuados como EB (Eissa et al., 2022; Ghosh et al., 2022; Martins et al., 2016; Safari et al., 2022; Zapata et al., 2015).

Tabla 2

Evaluación del EB en el tiempo incubado a temperatura ambiente (TA), fermentados con dos BAL y dos especies de residuos de pescado

Días	BAL 1		BAL 2		Promedio BAL y pescado	
	<i>C. obscurus</i>	<i>D. conceptione</i>	<i>C. obscurus</i>	<i>D. conceptione</i>	pH	% A
	pH	% A	pH	% A		
0	5,52±0,36 a	0,86±0,12 a	5,74±0,17 a	0,78±0,20 c	5,63±0,26 a	0,81±0,14 c
3	4,63±0,13 b	1,48±0,39 a	4,80±0,58 ab	1,30±0,14 c	4,71±0,36 b	1,39±0,26 bc
5	4,37±0,09 b	1,92±0,38 a	4,41±0,09 b	1,94±0,13 b	4,39±0,08 b	1,93±0,23 ab
10	4,26±0,14 b	2,29±0,38 a	4,24±0,04 b	2,34±0,09 ab	4,25±0,09 b	2,32±0,22 a
15	4,31±0,18 b	2,22±0,40 a	4,36±0,22 b	2,61±0,01 a	4,33±0,17 b	2,41±0,32 a
30	4,22±0,04 b	2,22±0,51 a	4,38±0,18 b	2,37±0,15 ab	4,30±0,14 b	2,28±0,33 a
	<i>C. obscurus</i>		<i>D. conceptione</i>			
	pH	% A	pH	% A		
BAL 1	4,54±0,36 a	1,57±0,48 a	4,55±0,54 a	1,87±0,73 a		
BAL 2	4,55±0,63 a	2,09±0,64 a	4,76±0,64 a	1,91±0,71 a		

(BAL 1 de gallina y BAL 2 de cerdo).

En cuanto al % A, el promedio obtenido durante el proceso fue de 1,57% a 2,09% y de 1,87 a 1,91% sin diferencia para cada residuo (Ghosh et al., 2022), lo que puede indicar que se pueden procesar como materia prima para el EB, múltiples compuestos orgánicas de origen marino como son vísceras de pescado, moluscos, crustáceos y otros (Barriga-Sánchez et al., 2019, Castillo et al., 2019, Fabiszewska et al., 2019, Safari et al., 2022, Terrones & Reyes, 2018).

En análisis de regresión, del proceso de incubación, muestra que el pH y % A, se encuentra influenciada por los días de incubación y no está influenciada según el tipo de BAL, materia prima, ni por la interacción entre ellas. (Ghosh et al., 2022; Ozyurt et al., 2020; Speranza et al., 2020), los residuos utilizados como materia prima no modifican el proceso de fermentación según (Calderón-Quispe, 2017), pero si los productos finales, el pH no cambia durante 48 días de incubación de los EQ por la cantidad y estabilidad de los ácidos químicos utilizados es más estable (Ghosh et al., 2022; Libonatti et al., 2019; Lutfullah et al., 2014; Martins et al., 2016; Ozyurt et al., 2020; Raeesi et al., 2021; Shabani et al., 2021).

Evaluación del EB a diferentes temperaturas de incubación

En esta evaluación se utilizaron la BAL 1 (cerdo), como materia prima se utilizó residuos de del fileteo de *C. obscurus* o *D. conceptione*, sometidos a tres temperaturas de incubación (TA o 30 °C o 40 °C), Tabla 3, se observa la evaluación del pH y el % A, donde el valor de estabilidad se obtuvo en el día 10 con pH 4,29, pH 4,15 y pH 4,22 según la temperatura de incubación respectivamente (TA o 30°C o 40°), donde el pH de estabilidad fue estadísticamente diferente a los obtenido en los días (3, 15 y 30), y semejante para en el día 5 a TA y 30 °C, el proceso a TA presentó menos variaciones del pH que a 30°C y 40°C, todos los pH obtenidos están dentro de los valores reportados en la estabilidad y viabilidad de diferentes ensilados (pH menores a 4,6) según (Eissa et al., 2022; Ghosh et al., 2022; Martins et al., 2016; Safari et al., 2022; Zapata et al., 2015). Durante el proceso de fermentación el EB fue más estable a partir de día 5, incubados a 30 °C y TA; también a 40 °C presento aumento del pH posterior a día de estabilidad sugiriendo un inicio de degeneración anticipada, frente al día 15 para TA y 30 °C, los valores de estabilidad y viabilidad obtenidos con estas temperaturas de incubación son semejantes a las del ensilado reportados por (Ghosh et al., 2022),

pero menores a los reportados en el ensilaje de pescado de (Guimarães et al., 2021). Teniendo en cuenta la materia prima utilizada, se presentaron diferencia en el pH obtenido como valor de estabilidad en la fermentación, pH 4,17 obtenida a los 10 días usando el *C. obscurus* y pH 4,17 para *D. conceptione*, con respecto al comportamiento del pH y % A, durante el proceso de fermentación el *C. obscurus* fue más estable que el *D. conceptione*, además el % A para estabilidad se presentó a los 10 y 15 días de fermentación respectivamente (1,66% y 2,35%), todos valores de estabilidad obtenidos son adecuados para un ensilado (Eissa et al., 2022; Ghosh et al., 2022; Martins et al., 2016; Safari et al., 2022; Zapata et al., 2015). Los valores de estabilidad del pH y % A obtenido durante el proceso de fermentación del *C. obscurus* y *D. conceptione*, confirmando la viabilidad del uso de residuos acuícolas para preparación de ensilado (Barriga-Sánchez et al., 2019, Castillo et al., 2019, Fabiszewska et al., 2019, Safari et al., 2022, Terrones & Reyes, 2018).

Al evaluar el pH y A % según la temperatura alcanzada por el EB durante la incubación podemos observar que la viabilidad se obtuvo cuando esta temperatura fue de 29 °C y 30 °C incubados a TA; 32 °C cuando se incubó a 30 °C y entre 40,7 °C a 41 °C incubado a 40 °C, demostrando que hay variabilidad en la estabilidad según la Temperatura de incubación (acortado o alargando el tiempo del proceso), el pH promedio menor fue de 4,37, observado incubando a 30 °C y el % A mayor fue de 1,92 incubado TA, valores relacionadas a la requerida por la mayoría de BAL para la fermentación (Ozyurt et al., 2020) menores a los pH obtenidos por (Calderón-Quispe, 2017) y % A (Barriga-Sánchez et al., 2019). Al comparar la temperatura del EB en la incubación, observamos que el pH fue menor a 29 °C a TA, a 32 °C a temperatura de incubación de 30 °C y a 42 °C incubadas a 40 °C, teniendo menos variación en el proceso de fermentación incubado a TA y a 40 °C y mucha variación de la temperatura del EB durante el proceso de fermentación al ser incubado a 30. Analizando el proceso según el residuo utilizado tenemos, en la Tabla 4, al comparar la convergencia de las variable temperatura y residuo evaluando el pH optimo y A % según la temperatura alcanzada por el ensilado fue más estable a 32 °C (4,21 pH y 2,07 % A) que difieren estadísticamente con la temperatura alcanzada entere los 40 a 42 °C como las menos estables (Fernández, 2021; Terrones & Reyes, 2018).

Tabla 3

Evaluación de la viabilidad del EB en el tiempo, fermentados con dos especies de pescado a diferentes temperaturas de incubación

Días	TA, 30 °C y 40 °C				<i>C. obscurus</i> y <i>D. conceptione</i>						Total, días de incubación de <i>C. obscurus</i> y <i>D. conceptione</i>	
	<i>C. obscurus</i>		<i>D. Conceptione</i>		incubado a TA		incubado a 30 °C		incubado a 40 °C		pH	%A
	pH	% A	pH	% A	pH	% A	pH	% A	pH	%A		
3	4,41 a	1,25 b	4,46 a	1,50 c	4,46 a	1,31 c	4,45 a	1,40 b	4,39 ab	1,42 a	4,43 a	1,37 b
5	4,36 ab	1,56 a	4,32 b	1,97 b	4,39 ab	1,84 b	4,32 b	1,70 ab	4,30 bc	1,76 a	4,34 b	1,77 a
10	4,28 b	1,66 a	4,17 c	2,23 ab	4,29 b	2,15 ab	4,15 c	2,05 a	4,23 c	1,63 a	4,22 c	1,95 a
15	4,39 ab	1,59 a	4,32 b	2,35 a	4,32 ab	2,27 a	4,33 b	2,10 a	4,42 a	1,54 a	4,36 ab	1,97 a
30	4,34 ab	1,63 a	4,42 ab	2,07 ab	4,37 ab	2,05 ab	4,28 b	2,08 a	4,49 a	1,41 a	4,38 ab	1,85 a

Días de incubación (s= 0,099 y 0,360; R-cuadrado 33,95% y 27,29%; R- cuadrado ajustado 31,65% y 24,76%).

La misma estabilidad observada al utilizar cualquier de los dos tipos de residuo observación (pH 4,26 y 4,17 también % A de 1,7 y 2,39), donde el residuo de *D. Conceptione* fue el más estable. Durante el proceso de incubación a TA y a 40 °C el pH no presenta diferencia entre sí, pero si a 30°C, (valores de estabilidad de pH 4,21 y % A 2,07), semejante a los reportado a los 29 °C de incubación por (Castillo-Mercado et al., 2020), durante la incubación los valores de pH y % A en el día 10, 15 y 30 fueron estadísticamente semejantes; la incubación a 40 °C presentó disminución del pH y aumento del % A, entendiéndose que durante la hidrólisis proteica se acelera, produce compuestos nitrogenados de bajo peso molecular, los cuales perturban la capacidad amortiguadora del ensilado al incrementarse los valores de pH y donde las bacterias ácido-lácticas comiencen a producir ácido y reducir el pH obtenido y aumentar la acidez (Barriga-Sánchez et al., 2019) en los procesos de fermentación la temperatura también modifica algunos componentes proteicos de la materia prima como en el caso delos hidrolizados (Renaldi et al., 2022). En todos los procesos de incubación variando la materia prima y temperatura se obtiene pH menor y % A mayor a temperaturas entre 31°C y 32 °C.

Durante el proceso de incubación el pH presenta influencia de interacción de temperaturas con días de incubación. En él % A presenta influencia según días de incubación, materia prima, interacción entre día y la interacción de las tres variables. Se puede considerar según este análisis que la viabilidad según el menor pH y % de A se puede obtener a los 30 días de incubación y con una temperatura de 28 °C valores semejantes a los obtenidos por (Barriga-Sánchez et al., 2019) y que resultan contradictorio al ensilado químico a diferentes temperaturas el cual no cambia el pH a partir de los 48 días de evaluación (Espe & Lied, 1999).

Evaluación microbiológica del ensilado

Se colectaron 150 g de muestras de los EB a los 15 y 30 días, de las siguientes temperaturas: TA, T30 °C y T40 °C.

Una buena práctica de elaboración y la inocuidad de los EB obtenidos se pueden determinar mediante el indicador microbiológicos de alimentos fermentados y alimentos balanceados para cerdos según normas Colombia (Fernández-Herrero et al., 2013); los valores de lactobacilos encontrados a los 15 y 30 días de incubación del EB están dentro de los valores encontrados en alimentos para animales enriquecidos con cepas probióticas (Ayala et al., 2018), siendo el límite permisible 10x10⁵ UFC/g para lactobacilos (Fernández-Herrero et al., 2013; Plaza et al., 2016).

En ensilado inoculados con BAL utilizando materia vegetal como materia prima (Okoye et al., 2023), en menor concentración se encontraron los valores de mesófilos aerobios en el EB incubado a TA y en el residuo del (*D conceptione*) donde se puede considera que la temperatura de incubación afecta estos valores, pero todos están dentro de los límites permitidos de alimentos para cerdos al comparar las temperaturas TA, 30 °C y 40 °C del Tabla 5 (Fernández-Herrero et al., 2013; Plaza et al., 2016), en el recuento de levaduras y hongos de los tratamientos T2 y T3 los valores fueron de 6,9x10⁴ UFC/mL, 9,3x10³ UFC/mL, también dentro del límite permisible correspondientes a 10x10⁴ UFC/g (García et al., 2019; Safari et al., 2022). También se evidencio la ausencia de microorganismos patógenos como *Salmonella* sp. Posiblemente por la condición de acidez del ensilado generada por las BAL (Ozyurt et al., 2020; Shabani et al., 2019). La cepa de fermentación no modificó los valores encontrados el proceso del EB a TA (Ghosh et al., 2022).

Tabla 4

Evaluación de la viabilidad según la temperatura del EB, fermentados con dos especies de pescado a diferentes temperaturas de incubación

°T	Temperatura ambiente, 30 °C y 40 °C				C obscurus y D conceptione						temperatura de incubación de C. obscurus y D. Conceptione	
	C obscurus		D. Conceptione		incubado a °T ambiente		incubado a 30 °C		incubado a 40 °C		pH	%A
	pH	%A	pH	%A	pH	%A	pH	%A	pH	%A		
28	4,44 a	1,72 a	4,27 cd	2,10 abc	4,36 a	1,91 a					4,36 a	1,91 ab
29	4,34 ab	1,75 a			4,34 a	1,75 a					4,34 ab	1,74 ab
30	4,40 ab	1,28 b	4,45 a	1,94 bc	4,42 a	2,14 a	4,45 a	1,40 b			4,44 A	1,77 ab
31	4,33 ab	1,61 ab	4,33 abcd	2,58 a			4,33 b	2,09 a			4,33 ab	2,09 a
32	4,26 b	1,74 a	4,17 d	2,39 ab			4,21 c	2,07 a			4,21 b	2,07 a
33	4,36 ab	1,35 ab	4,25 bcd	1,87 bc			4,27 bc	1,77 ab			4,27 ab	1,77 ab
33,7	4,39 ab	1,53 ab					4,39 abc	1,53 ab			4,39 ab	1,53 ab
34	4,41 ab	1,62 ab					4,41 ab	1,62 ab			4,41 ab	1,62 ab
40	4,30 ab	1,28 b	4,48 ab	1,62 c					4,40 a	1,47 a	4,40 a	1,47 b
40,7			4,44 abcd	1,85 abc					4,44 a	1,85 a	4,44 a	1,85 ab
41	4,33 ab	1,37 b	4,38 abc	1,96 abc					4,35 a	1,62 a	4,35 a	1,62 ab
42	4,38 ab	1,26 b	4,35 abc	1,79 c					4,36 a	1,52 a	4,37 a	1,52 b
total	4,36 ab	1,54 b	4,33 a	2,02 a	4,37 a	1,92 a	4,31 a	1,86 a	4,37 a	1,55 b		

Temperatura de incubación (s= 0,106 y 0,379; R-cuadrado 29,10% y 24,11%; R- cuadrado ajustado 21,88% y 16,38%),

Tabla 5
Evaluación microbiológica del EB a los 15 días de incubación

Parámetro microbiológico	Tiempo evaluación (días)	Cepa 1					Cepa 2		
		<i>D. conceptione</i> TA	<i>D. conceptione</i> 30 °C	<i>D. conceptione</i> 40 °C	<i>C. obscurus</i> TA	<i>C. obscurus</i> 30 °C	<i>C. obscurus</i> 40 °C	<i>C. conceptione</i> TA	<i>C. obscurus</i> TA
BAL (UFC/ml)	15	10,7x10 ⁴	3,5x10 ⁴	25,7x10 ³	5,2x10 ⁷	6,6x10 ⁷	8,5x10 ⁵		
	30	13,9x10 ⁶	11,5x10 ⁴	10,2x10 ⁴	19,8x10 ⁵	12,8x10 ⁵	8,1x10 ⁵	1,2x10 ⁵	3,2x10 ⁵
Mesófilos aerobios (UFC/ml)	15	9,6x10 ⁴	22,5x10 ³	5,1x10 ³	6,2x10 ⁷	7,4x10 ⁷	6,3x10 ⁵		
	30	6,9x10 ⁵	9,7x10 ⁴	20,3x10 ⁷	14,4x10 ⁸	6,9x10 ⁵	5,0x10 ⁵	3,9x10 ⁴	1,54x10 ⁵
Levaduras y hongos (UFC/ml)	15	19,3x10 ⁴	6,9x10 ⁴	9,3x10 ³	26,6x10 ⁴	6,6x10 ⁵	4,7x10 ⁵		
	30	12,6x10 ⁵	12,3x10 ⁴	6,2x10 ⁴	18,1x10 ⁷	7,4x10 ⁵	4,8x10 ⁵	0,11x10 ⁴	2,08x10 ⁵
Salmonella sp. (/25 g)	15	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia
	30	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia

Análisis organolépticos

Las características organolépticas fueron semejantes en todas las variantes en estudio utilizando diferentes BAL, diferentes residuos de pescados, en el día 3 y 5 fue Beige, el día 10 Beige oscuro y los días 15 y 30 marrón a marrón oscuro; para el olor en el día 3 dulce y a pescado, día 5 dulce ácido con suave olor a pescado y los días 10, 15 y 30 ácido suave, ácido fuerte y ligeramente ácido dulce-alcohol y para la consistencia en el día 3 pastoso con poco líquido, el día 5 pastoso, el día 10, 15 y 30 semisólido pastoso semejante a los reportados por diferentes autores (Castillo et al., 2019; Fernández-Herrero et al., 2013; Ghosh et al., 2022), en el estudio se observaron las características de buena calidad del EB semejante a las obtenidas por otros autores, como son color amarillado grisáceo claro, consistencia líquida y olor ácido suave, olor ligeramente a frutas fermentadas, su prolongado tiempo de almacenamiento, hace al ensilado más liviano en consistencia y desarrolla un agradable olor (Barriga-Sánchez et al., 2019; Gaviria et al., 2021; Ghosh et al., 2022; Sánchez Suarez et al., 2016).

Análisis nutricional

En todos los tratamientos según la temperatura de incubación y residuo del Tabla 6, se observa la comparación del contenido de proteína antes del proceso y la proteína después de la fermentación, la cual está en relación directa con la composición proteica de la materia prima, por lo que se puede considerar que el contenido nutricional del EB depende de la materia prima a utilizada (Espe &

Lied, 1999; Fernández Herrero et al., 2017), el proceso del EB no afecta el contenido de proteínas comparando entre residuos de pescado crudo y obtenido en el ensilado biológico (Calderón-Quispe et al., 2017), el EB conservan su valor (Guimarães et al., 2021). Estudios realizados por Zapata et al. (2015) son diferentes en menor cantidad en los encontrados en el ensilado de pescado, obtuvieron resultados en base seca un 26,3% de proteína y 2,9 % de grasa, difieren mucho con los resultados obtenidos con ligero incremento del contenido de en la materia prima inicial (Palkar, 2018; Ziyaei & Hosseini, 2021), son mayores a 28% en dieta para tambaqui (Costa et al., 2024), la cantidad de proteína se ajusta a los requerimientos nutricionales y energéticos necesarios en la alimentación animal, pudiendo ser utilizado, como insumos proteicos de origen animal. El contenido de cenizas es variable dependiendo de los residuos aprovechados (enteros, vísceras, espinas y esqueletos), que tienen un alto porcentaje de cenizas con rangos de 9 a 17%, menores a los obtenidos en el presente trabajo de investigación 26,12%; EB de *D. conceptione* y 29,35% en el *C. obscurus* (Castillo et al., 2019; Fernández, 2021; García et al., 2020; Shabani et al., 2019), en ensilados con pescado entero como materia prima y en base seca (87,5%) mejoran notablemente el contenido de proteína del EB, (62,4%) según (Plaza et al., 2016). La materia prima si alteró la composición proteica del producto final (Fernández Herrero et al., 2017; Ghosh et al., 2022; Guimarães et al., 2021).

Tabla 6
Composición proximal del EB, según materia prima y temperatura de incubación

Especie	Tratamiento	MS (%)	G (%)	P (%)	C (%)	FN (%)
<i>D. conceptione</i>	Inicial TA (CG)	90,46	10,75	32,43	24,23	1,60
	Final TA (CG)	93,69	9,50	36,70	25,50	1,30
	Inicial TA (CC)	90,46	10,75	32,43	24,23	1,60
	Final TA (CC)	93,69	9,50	36,70	25,50	1,30
	Inicial 30 °C	95,75	11,54	30,20	25,48	1,40
	Final 30 °C	95,78	14,00	33,80	26,12	1,70
	Inicial 40 °C	94,14	10,07	34,63	25,50	1,47
	Final 40 °C	90,37	9,76	36,00	25,50	1,50
<i>C. obscurus</i>	Inicial (CG)	94,14	14,14	24,66	18,76	1,35
	Final (CG)	90,48	11,24	33,00	26,12	1,50
	Inicial (CC)	94,14	14,14	24,66	18,76	1,35
	Final (CC)	90,48	11,24	33,00	26,12	1,50
	inicial 30 °C	92,80	13,61	27,25	25,93	1,65
	final 30 °C	89,66	10,07	32,60	25,50	1,23
	inicial 40 °C	93,30	11,19	30,60	29,35	1,54
	final 40 °C	92,90	11,19	33,16	29,35	1,39

MS: Materia seca, PC: proteína cruda, G: Grasa, C: Ceniza, FC: Fibra cruda.

CONCLUSIONES

El ensilado biológico (EB), es una alternativa de conservación estable y a la vez mejorar nutritivamente los desechos orgánicos para ser destinados a la alimentación animal (cerdos y aves). En el proceso de fermentación la temperatura influye, en el tiempo de incubación considerándose más eficiente incubar a temperatura de 30 °C, pero si aumenta la incubación a 40 °C se acelera el proceso de incubación, el proceso está estable en menos tiempo de incubación y su deterioro empieza más temprano. En la producción del EB se puede usar indistintamente los diferentes tipos de cepas de bacterias ácido lácticas (BAL) nativas, aisladas del

tracto digestivo del cerdos y aves evaluadas previamente, por lo que estos hallazgos permitirán considerar como organismos fermentadores para obtener el EB, bacterias nativas aisladas del animal cerdo o gallina. Al aumentar la temperatura de incubación, genera un costo adicional que es parte de la producción del EB. El contenido nutricional del EB depende de la Materia prima utilizada y en proceso el EB aumenta ligeramente el contenido de proteína de la materia prima utilizada.

Otra variable que se puede considerar para ser una alternativa procesada mediante el EB pueden ser la mezcla de residuos orgánicos de origen animal y vegetal como materia prima para hacer EB.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- FEEDAP et al. (2023). Assessment of eight feed additives consisting of *Lactiplantibacillus plantarum* CNCM I-3235, *L. plantarum* CNCM I-3736/DSM 11672, *Pediococcus acidilactici* CNCM I-3237, *P. acidilactici* CNCM I-4622/DSM 11673, *Pediococcus pentosaceus* NCIMB 12455, *Acidipropionibacterium acidipropionici* CNCM I-4661, *Lentilactobacillus buchneri* NCIMB 40788/CNCM I-4323 and *L. buchneri* NCIMB 40788/CNCM I-4323 plus *Lentilactobacillus hilgardii* CNCM I-4785 for all animal species for the renewal of their authorisation (Danst. *EFSA Journal*, 21(2). <https://doi.org/10.2903/J.EFSA.2023.7865>
- Abbas, S., Riaz, A., Nawaz, S. K., & Arshad, N. (2021). Probiotic potential of locally isolated strain *Lactobacillus brevis* mf179529 and its comparison with commercial probiotics in chicken model. *Pakistan Journal of Agricultural Sciences*, 58(1), 135–141. <https://doi.org/10.21162/PAKJAS/21.869>
- Alzahrani, O. M., Fayez, M., Alswat, A. S., Alkafafy, M., Mahmoud, S. F., Al-Marri, T., Almuslem, A., Ashfaq, H., & Yusuf, S. (2022). Antimicrobial Resistance, Biofilm Formation, and Virulence Genes in Enterococcus Species from Small Backyard Chicken Flocks. *Antibiotics*, 11(3). <https://doi.org/10.3390/ANTIBIOTICS11030380>
- Arteaga-Chávez, F., López-Vera, M., Laurencio-Silva, M., Rondón-Castillo, A., Milián-Florido, G., Barrios-González, V., Bocourt-Salabarría, R., & El Limón, S. (2017). Selection and identification of *Bacillus* spp. isolates from the digestive tract of backyard chicken, with probiotic potential. *Pastos y Forrajes*, 40(1), 51–60.
- Ayala, D. I., Chen, J. C., Bugarel, M., Loneragan, G. H., den Bakker, H. C., Kottapalli, K. R., Brashers, M. M., & Nightingale, K. K. (2018). Molecular detection and quantification of viable probiotic strains in animal feedstuffs using the commercial direct fed microbial *Lactobacillus animalis* NP51 as a model. *Journal of Microbiological Methods*, 149, 36–43. <https://doi.org/10.1016/j.MIMET.2018.04.012>
- Baindara, P., Chakraborty, R., Holliday, Z. M., Mandal, S. M., & Schrum, A. G. (2021). Oral probiotics in coronavirus disease 2019: connecting the gut–lung axis to viral pathogenesis, inflammation, secondary infection and clinical trials. In *New Microbes and New Infections* (Vol. 40). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.nmni.2021.100837>
- Barriga-Sánchez, M., Churacutipa, M., & Salas, A. (2019). Elaboración de ensilado biológico a partir de residuo crudo de trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss* (Walbaum, 1792)) en Puno, Perú. *Ecología Aplicada*, 18(1), 37. <https://doi.org/10.21704/rea.v18i1.1304>
- Betancur, C., Martínez, Y., Tellez-isaias, G., Avellaneda, M. C., & Velázquez-martí, B. (2020). In vitro characterization of indigenous probiotic strains isolated from colombian creole pigs. *Animals*, 10(7), 1–11.
- Calderón-Quispe, V., Churacutipa-Mamani, M., Salas, A., Barriga-Sánchez, M., & Araníbar, M. J. (2017). Effect of the inclusion of silage of trout residues in pigs feed and its effect on the productive performance and the taste of meat. *Revista de Investigaciones Veterinarias Del Peru*, 28(2), 265–274. <https://doi.org/10.15381/rivep.v28i2.13055>
- Castillo-Mercado, R. A., Bucio-Galindo, A., Salinas-Hernández, R. M., Aranda-Ibáñez, E. M., Izquierdo-Reyes, F., & Ramos-Juárez, J. A. (2020). Milk quality of dual-purpose cows supplemented with biological fish silage (*Pterygoplichthys* sp.) as a protein source. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarías*, 33(4), 252–263. <https://doi.org/10.17533/UDEA.RCCP.V33N4A05>
- Castillo, W. E. G., Suárez, H. A. Sánchez, & Mogollón, G. M. O. (2019). Evaluation of fish residues and shrimp head silages fermented with *Lactobacillus fermentus* isolated from pig. *Revista de Investigaciones Veterinarias Del Peru*, 30(4), 1456–1469. <https://doi.org/10.15381/rivep.v30i4.17165>
- Chiang, M. L., Chen, H. C., Chen, K. N., Lin, Y. C., Lin, Y. T., & Chen, M. J. (2015). Optimizing Production of Two Potential Probiotic *Lactobacilli* Strains Isolated from Piglet Feces as Feed Additives for Weaned Piglets. *Asian-Australas J Anim Sci*, 28(8), 1163–1170. <https://doi.org/10.5713/ajas.14.0780>
- Chu, T. W., Chen, C. N., & Pan, C. Y. (2020). Antimicrobial status of tilapia (*Oreochromis niloticus*) fed Enterococcus avium originally isolated from goldfish intestine. *Aquaculture Reports*, 17. <https://doi.org/10.1016/j.AQREP.2020.100397>
- Cossio, D. S., Hernández, Y. G., & Mendoza, J. C. D. (2018). Development of probiotics for animal production. Experiences in Cuba Desarrollo de probióticos destinados a la producción animal: experiencias en Cuba. *Cuban Journal of Agricultural Science*, 52(4), 1.
- Costa, M. N. F., Furtado, Y. I. C., Monteiro, C. C., Brasiliense, A. R. P., & Yoshioka, E. T. O. (2024). Physiological responses of tambaqui (*Colossoma macropomum*) fed diets supplemented with silage from fish and vegetables residues. *Brazilian Journal of Biology*, 84. <https://doi.org/10.1590/1519-6984.255493>
- Eissa, A. E., Yusuf, M. S., Younis, N. A., Fekry, M., Dessouki, A. A., Ismail, G. A., Ford, H., & Abdelatty, A. M. (2022). Effect of poultry offal silage with or without betaine supplementation on growth performance, intestinal morphometry, spleen histomorphology of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fingerlings. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 106(5), 1189–1195.
- Espe, M., & Lied, E. (1999). Fish silage prepared from different cooked and uncooked raw materials: chemical changes during storage at different temperatures. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 79(2), 327–332.
- Eyerlalde, L. (2018). Aislamiento y caracterización de bacterias ácido lácticas de intestino de cerdos con potencial probiótico. Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires. Tesis. Facultad de Ciencias Veterinarias.
- Fabiszewska, A. U., Zielińska, K. J., & Wróbel, B. (2019). Trends in designing microbial silage quality by biotechnological methods using lactic acid bacteria inoculants: a minireview. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 35(5), 1–8. <https://doi.org/10.1007/s11274-019-2649-2>
- Fadare, O. S., Anyadike, C. H., Momoh, A. O., & Bello, T. K. (2023). Antimicrobial properties, safety, and probiotic attributes of lactic acid bacteria isolated from Sauerkraut. *African Journal of Clinical and Experimental Microbiology*, 24(1), 61–72. <https://doi.org/10.4314/ajcem.v24i1.8>
- Feng, Y., Qiao, L., Liu, R., Yao, H., & Gao, C. (2017). Potential probiotic properties of lactic acid bacteria isolated from the intestinal mucosa of healthy piglets. *Annals of Microbiology*, 67(3), 239–253. <https://doi.org/10.1007/s13213-017-1254-6>

- Fernández-Herrero, A., Tabera, A., Agüeria, D., & Manca, E. (2013). Obtención, caracterización microbiológica y fisicoquímica de ensilado biológico de anchoíta (*Engraulis anchoíta*). *Revista electrónica de Veterinaria-REDVET*, 14(2), 15-19.
- Fernández Herrero, A. (2021). Chemical and biological ensilates. An alternative for the integral and sustainable use of fishing waste in Argentina | Marine and Fishery Sciences (MAFIS). Instituto Nacional de Investigación y Desarrollo Pesquero (INIDEP), Mar Del Plata, Argentina.
- Fernández Herrero, A., Fernández Compás, A., Salomone, A., & Vittone, M. (2017). Utilización de inóculo comercial para la producción de ensilado de pescado. *Revista Electronica de Veterinaria*, 18(9), 1-9.
- García, P. P., Ortiz, J. Q., Mogollón, G. O., & Suárez, H. S. (2020). Biological silage of shrimp waste fermented with lactic acid bacteria: Use as a biofertilizer in pasture crops and as feed for backyard pigs. *Scientia Agropecuaria*, 11(4), 459-471. <https://doi.org/10.17268/SCI.AGROPECU.2020.04.01>
- García, W. E. C., Suárez, H. A. S., & Mogollón, G. M. O. (2019). Evaluation of fish residues and shrimp head silages fermented with *Lactobacillus fermentus* isolated from pig. *Revista de Investigaciones Veterinarias Del Peru*, 30(4), 1456-1469. <https://doi.org/10.15381/rivep.v30i4.17165>
- Gaviria, Y. S., Figueroa, O. A., Zapata, J. E., Gaviria, Y. S., Figueroa, O. A., & Zapata, J. E. (2021). Efecto de la inclusión de ensilado químico de vísceras de tilapia roja (*Oreochromis* spp.) en dietas para pollos de engorde sobre los parámetros productivos y sanguíneos. *Información Tecnológica*, 32(3), 79-88.
- Gebert, S., Davis, E., Rehberger, T., & Maxwell, C. V. (2011). *Lactobacillus brevis* strain 1E1 administered to piglets through milk supplementation prior to weaning maintains intestinal integrity after the weaning event. *Beneficial Microbes*, 2(1), 35-45.
- Ghosh, S. K., Reddy, R., Xavier, K. A. M., Balange, A. K., Kumar, H. S., & Nayak, B. B. (2022). Comparative Evaluation of Microbial Ensilaging of Fish, Vegetable and Fish-Vegetable Composite Wastes. *Waste and Biomass Valorization*, 14(5), 1657-1666. <https://doi.org/10.1007/S12649-022-01956-X/METRICS>
- Guimarães, C. C., Maciel, I. V., Silva, A. F., Lopes, A. F., Ramón Carpio, K. C., & Inhamuns da Silva, A. J. (2021). Aspectos biotecnológicos da silagem biológica de resíduos do Tambaqui. *Revista Em Agronegócio e Meio Ambiente*, 14(1), 205-215.
- Guo, X., Xu, D., Li, F., Bai, J., & Su, R. (2023). Current approaches on the roles of lactic acid bacteria in crop silage. *Microbial Biotechnology*, 16(1), 67-87.
- Henry, J.-G., Javier, M.-B., & Cristian, P. (2015). Characterization of the Fermentation Process and the Inhibition Effect of *Lactobacillus lactis* in *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis*. *Revista de Medicina Veterinaria*, 30, 15-29. <https://doi.org/10.19052/mv.3606>
- Hernández-García, J. E., Sebastián-Frizzo, L., Rodríguez-Fernández, J. C., Valdez-Paneca, G., Virginia-Zbrun, M., & Calero-Herrera, I. (2019). Evaluación in vitro del potencial probiótico de *Lactobacillus acidophilus* SS80 y *Streptococcus thermophilus* SS77. *Revista de Salud Animal*, 41(1), 1-13.
- Hu, G., Jiang, H., Zong, Y., Datsomor, O., Kou, L., An, Y., Zhao, J., & Miao, L. (2022). Characterization of Lactic Acid-Producing Bacteria Isolated from Rumen: Growth, Acid and Bile Salt Tolerance, and Antimicrobial Function. *Fermentation*, 8(8). <https://doi.org/10.3390/FERMENTATION8080385>
- Kariyawasam, K. M. G. M. M., Lee, N. K., & Paik, H. D. (2021). Synbiotic yoghurt supplemented with novel probiotic *Lactobacillus brevis* KU200019 and fructooligosaccharides. *Food Bioscience*, 39. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2020.100835>
- Kern, M., Aschenbach, J. R., Tedin, K., Pieper, R., Loss, H., & Lodemann, U. (2017). Characterization of Inflammasome Components in Pig Intestine and Analysis of the Influence of Probiotic *Enterococcus faecium* during an *Escherichia Coli* Challenge. *Immunological Investigations*, 46(7), 742-757. <https://doi.org/10.1080/08820139.2017.1360341>
- Kouhi, F., Mirzaei, H., Nami, Y., Khandaghi, J., & Javadi, A. (2022). Potential probiotic and safety characterisation of enterococcus bacteria isolated from indigenous fermented motal cheese. *International Dairy Journal*, 126. <https://doi.org/10.1016/j.IDAIRY.2021.105247>
- Lähteinen, T., Lindholm, A., Rinttilä, T., Junnikkala, S., Kant, R., Pietilä, T. E., Levonen, K., von Ossowski, I., Solano-Aguilar, G., Jakava-Viljanen, M., & Palva, A. (2014). Effect of *Lactobacillus brevis* ATCC 8287 as a feeding supplement on the performance and immune function of piglets. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 158(1-2), 14-25. <https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2013.09.002>
- Lenghiz, S., Abbassi, M. S., Rehaïem, A., Ben Chehida, N., & Najar, T. (2021). Characterization of bacteriocinogenic *Enterococcus* isolates from wild and laboratory rabbits for the selection of autochthonous probiotic strains in Tunisia. *Journal of Applied Microbiology*, 131(3), 1474-1486. <https://doi.org/10.1111/JAM.15047>
- Lezcano, P., Vazquez, A., Bolaños, A., ... J. P.-C. J. of, & 2015, U. (2015). Ensilado de alimentos alternativos, de origen cubano, una alternativa técnica, económica y ambiental para la producción de carne de cerdo. *Cuban Journal of Agricultural Science*, 49(1), 1-5.
- Libonatti, C., Agüeria, D., García, C., & Basualdo, M. (2019). Weissella paramesenteroides encapsulation and its application in the use of fish waste. *Revista Argentina de Microbiología*, 51(1), 81-83.
- Liu, H., Ji, H. F., Zhang, D. Y., Wang, S. X., Wang, J., Shan, D. C., & Wang, Y. M. (2015). Effects of *Lactobacillus brevis* preparation on growth performance, fecal microflora and serum profile in weaned pigs. *Livestock Science*, 178, 251-254. <https://doi.org/10.1016/j.LIVSCI.2015.06.002>
- Lutfullah, G., Khan, A. A., Amjad, A. Y., & Perveen, S. (2014). Comparative study of heavy metals in dried and fluid milk in Peshawar by atomic absorption spectrophotometry. *Scientific World Journal*, 2014, 715845.
- MacFaddin, J. F. (2003). Pruebas bioquímicas para la identificación de bacterias de importancia clínica. Ed. Médica Panamericana.
- Martins, M. I. E. G., da Costa, J. I., Gonçalves, G. S., & Vidotti, R. M. (2016). Feasibility Study of a Fish By-Product Recovery Plant with a Processing Capacity of 1,000 kg/Day. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 25(8), 1202-1212. <https://doi.org/10.1080/10498850.2015.1046098>
- Mogollon, C. R., Mogollon, C. R., Mogollón, G. O., Aguilera, R. A., Ortiz, J. Q., & Suárez, H. S. (2021). Producción y evaluación de inóculos lácteos probióticos obtenidos del tracto digestivo de lechón (*Sus scrofa domestica*) propuestos para alimentación porcina. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*, 12(1), 120-137. <https://doi.org/10.22319/rmcp.v12i1.5445>
- Mohanty, U., Majumdar, R. K., Mohanty, B., Mehta, N. K., & Parhi, J. (2020). Influence of the extent of enzymatic hydrolysis on the functional properties of protein hydrolysates from visceral waste of Labeo rohita. *Journal of Food Science and Technology*, 58(11), 4349-4358. <https://doi.org/10.1007/S13197-020-04915-3>
- Mugwanda, K., Hamese, S., Van Zyl, W. F., Prinsloo, E., Du Plessis, M., Dicks, L. M. T., & Thimiri Govinda Raj, D. B. (2023). Recent advances in genetic tools for engineering probiotic lactic acid bacteria. *Bioscience Reports*, 43(1), 20211299. <https://doi.org/10.1042/BSR20211299/232386>
- Mushtaq, M., Arshad, N., Hameed, M., Munir, A., Javed, G. A., & Rehman, A. (2023). Lead biosorption efficiency of *Levilactobacillus brevis* MZ384011 and *Levilactobacillus brevis* MW362779: A response surface based approach. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 30(2). <https://doi.org/10.1016/j.SJBS.2022.103547>
- Nag, M., Lahiri, D., Dey, A., Sarkar, T., Pati, S., Joshi, S., Bunawan, H., Mohammed, A., Edinur, H. A., Ghosh, S., & Ray, R. R. (2022). Seafood Discards: A Potent Source of Enzymes and Biomacromolecules With Nutritional and Nutraceutical Significance. *Frontiers in Nutrition*, 9, 879929. <https://doi.org/10.3389/FNUT.2022.879929>
- Ng, S. Y., Koon, S. S., Padam, B. S., & Chye, F. Y. (2015). Evaluation of probiotic potential of lactic acid bacteria isolated from traditional Malaysian fermented Bambang (Mangifera pajang). *CyTA: Journal of Food*, 13(4), 563-572. <https://doi.org/10.1080/19476337.2015.1020342>
- Niwa, T., Yokoyama, S. I., Mochizuki, M., & Osawa, T. (2021). Production of optically active hexahydrocurcumin by human intestinal bacterium in vitro. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 44(1), 136-139. <https://doi.org/10.1248/bpb.b20-00584>
- Noohi, N., Papizadeh, M., Rohani, M., Talebi, M., & Pourshafie, M. R. (2020). Screening for probiotic characters in lactobacilli isolated from chickens revealed the intra-species diversity of *Lactobacillus brevis*. *Animal Nutrition*, 7(1) 119-126. <https://doi.org/10.1016/j.aninu.2020.07.005>
- Okoye, C. O., Wang, Y., Gao, L., Wu, Y., Li, X., Sun, J., & Jiang, J. (2023). The performance of lactic acid bacteria in silage production: A review of modern biotechnology for silage improvement. *Microbiological Research*, 266, 127212. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2022.127212>
- Ostadzadeh, M., Habibi Najafi, M. B., & Ehsani, M. R. (2022). Lactic acid bacteria isolated from traditional Iranian butter with

- probiotic and cholesterol-lowering properties: In vitro and in situ activity. *Food Science and Nutrition*, 11(1), 350-363. <https://doi.org/10.1002/FSN3.3066>
- Ozyurt, C. E., Boga, E. K., Ozkutuğ, A. S., Ucar, Y., Durmus, M., & Ozyurt, G. (2020). Bioconversion of Discard Fish (Equulites klunzingeri and Carassius gibelio) Fermented with Natural Lactic Acid Bacteria; the Chemical and Microbiological Quality of Ensilage. *Waste and Biomass Valorization*, 11(4), 1435-1442. <https://doi.org/10.1007/s12649-018-0493-5>
- Palkar, N. D. (2018). Preparation of Co-Dried Fish Silage by Using Fish Market Waste and Its Comparative Study. *International Journal of Pure & Applied Bioscience*, 6(2), 1567-1577. <https://doi.org/10.18782/2320-7051.6511>
- Park, J., Jin, G. D., Pak, J. I., Won, J., & Kim, E. B. (2017). Development of a Rapid Identification Method for the Differentiation of Enterococcus Species Using a Species-Specific Multiplex PCR Based on Comparative Genomics. *Current Microbiology*, 74(4), 476-483. <https://doi.org/10.1007/s00284-017-1210-5>
- Pérez, M. B., Argañaraz Martínez, E., Babot, J. D., Pérez Chaia, A., & Saguir, F. M. (2022). Growth studies of dominant lactic acid bacteria in orange juice and selection of strains to ferment citric fruit juices with probiotic potential. *Brazilian Journal of Microbiology*, 53, 2145-2156. <https://doi.org/10.1007/S42770-022-00830-1>
- Plaza, J. L., Bolívar, G., & Ramírez, C. (2016). Effect of drying process in silage from fish waste with L. Plantarum in physicochemical and microbiological characteristics of the product. *Vitae*, 23, S299-S303.
- Pudgar, P., Povšič, K., Čuk, K., Seme, K., Petelin, M., & Gašperšič, R. (2020). Probiotic strains of Lactobacillus brevis and Lactobacillus plantarum as adjunct to non-surgical periodontal therapy: 3-month results of a randomized controlled clinical trial. *Clinical Oral Investigations*, 25, 1411-1422. <https://doi.org/10.1007/s00784-020-03449-4>
- Rabaoui, G., Sánchez-Juanes, F., Tebini, M., Naghmouchi, K., Bellido, J. L. M., Ben-Mahrez, K., & Réjiba, S. (2022). Potential Probiotic Lactic Acid Bacteria with Anti-Penicillium expansum Activity from Different Species of Tunisian Edible Snails. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 15, 82-106. <https://doi.org/10.1007/S12602-021-09882-5>
- Raeesi, R., Shabanpour, B., & Pourashouri, P. (2021). Quality Evaluation of Produced Silage and Extracted Oil from Rainbow Trout (Oncorhynchus mykiss) Wastes Using Acidic and Fermentation Methods. *Waste and Biomass Valorization*, 12(9), 4931-4942. <https://doi.org/10.1007/S12649-020-01331-8>
- Rathod, G., & Kairam, N. (2018). Preparation of omega 3 rich oral supplement using dairy and non-dairy based ingredients. *J Food Sci Technol*, 55(2), 760-766. <https://doi.org/10.1007/s13197-017-2988-7>
- Renaldi, G., Sirinupong, N., & Samakradhamrongthai, R. S. (2022). Effect of extraction pH and temperature on yield and physicochemical properties of gelatin from Atlantic salmon (Salmo salar) skin. *Agriculture and Natural Resources*, 56(4), 687-696. <https://doi.org/10.34044/J.ANRES.2022.56.4.03>
- Reyes-Jurado, F., Palou, E., & López-Malo, A. (2014). Métodos de evaluación de la actividad antimicrobiana y de determinación de los componentes químicas de los aceites esenciales. *Temas selectos de ingeniería de alimentos*, 8(1), 68-78.
- Rojas-Runjaic, B., Perdomo, D. A., García, D. E., González-Estopiñán, M., Corredor, Z., Moratinos, P., & Santos, O. (2011). Rendimiento en canal y fileteado de la tilapia (*Oreochromis niloticus*) variedad Chitralada producida en el estado Trujillo, Venezuela. *Zootecnia Tropical*, 29(1), 113-126.
- Safari, R., Yaghoobzadeh, Z., Bankehsaz, Z., Reyhani Poul, S., Jafari, A., & Abbaszadeh, M. M. (2022). Evaluation of quality and chemical spoilage indicators of biological silage produced from chicken waste and its comparison with meat, blood meal and kilka fish meal. *Journal of Food Science and Technology (Iran)*, 18(121), 203-213.
- Sajib, M., Langeland, M., & Undeland, I. (2022). Effect of antioxidants on lipid oxidation in herring (*Clupea harengus*) co-product silage during its production, heat-treatment and storage. *Scientific Reports*, 12(1). <https://doi.org/10.1038/S41598-022-07409-8>
- Salazar Céspedes, C. M., Chacón Nieto, G., Alarcón Vélez, J., Luque Sánchez, C., Cornejo Urbina, R., & Chalking, F. (2015). Flota de arrastre de fondo de menor escala en la Región Tumbes. Instituto Del Mar Del Perú - IMARPE.
- Salehizadeh, M., Modarressi, M. H., Mousavi, S. N., & Ebrahimi, M. T. (2020). Evaluation of lactic acid bacteria isolated from poultry feces as potential probiotic and its in vitro competitive activity against *Salmonella typhimurium*. *Veterinary Research Forum*, 11(1), 67-75. <https://doi.org/10.30466/vrf.2018.84395.2110>
- Sánchez Suarez, H., Gloria, & Mogollon, O. (2016). Producción y valoración de alimentos para animales monogástricos, con ensilado biológico de restos del procesamiento de langostino (*Litopenaeus vannamei*) fermentados con lactobacilos. *Scientia Agropecuaria*, 7, 181-190. <https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2016.03.04>
- Shabani, A., Boldaji, F., Dastar, B., Ghoorchi, T., Zerehdaran, S., & Ashayerizadeh, A. (2021). Evaluation of increasing concentrations of fish waste silage in diets on growth performance, gastrointestinal microbial population, and intestinal morphology of broiler chickens. *Animal Feed Science and Technology*, 275, 114874. <https://doi.org/10.1016/J.ANIFEEDSCI.2021.114874>
- Shabani, A., Jazi, V., Ashayerizadeh, A., & Barekatin, R. (2019). Inclusion of fish waste silage in broiler diets affects gut microflora, cecal short-chain fatty acids, digestive enzyme activity, nutrient digestibility, and excreta gas emission. *Poultry Science*, 98(10), 4909-4918. <https://doi.org/10.3382/ps/pez244>
- Song, M. W., Park, J. Y., Kim, W. J., Kim, K. T., & Paik, H. D. (2022). Fermentative effects by probiotic Lactobacillus brevis B7 on antioxidant and anti-inflammatory properties of hydroponic ginseng. *Food Science and Biotechnology*, 32, 169-180. <https://doi.org/10.1007/S10068-022-01183-Z>
- Speranza, B., Racioppo, A., Campaniello, D., Altieri, C., Sinigaglia, M., Corbo, M. R., & Bevilacqua, A. (2020). Use of Autochthonous Lactiplantibacillus plantarum Strains to Produce Fermented Fish Products. *Frontiers in Microbiology*, 11. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.615904>
- Sulfahri, S., Rauf Husain, D., & Gunawan, S. (2020). Antimicrobial potential of lactic acid bacteria from domestic chickens (*Gallus domesticus*) from south Celebes, Indonesia, in different growth phases: in vitro experiments supported by computational docking. *Iranian Journal of Microbiology*, 12(1), 62-69.
- Sun, B., Wang, R., Yue, Z., Zheng, H., Zhou, Q., Bao, C., Shi, B., Lv, Y., Shan, A., & Ma, Q. (2023). Effects of sweet potato vine silage supplementation on meat quality, antioxidant capacity and immune function in finishing pigs. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 107(2), 556-563. <https://doi.org/10.1111/JPN.13737>
- Terrones España, S., & Reyes Avalos, W. (2018). Efecto de dietas con ensilado biológico de residuos de molusco en el crecimiento del camarón *Cryphiops caementarius* y tilapia *Oreochromis niloticus* en co-cultivo intensivo. *Scientia agropecuaria*, 9(2), 167-176.
- Turner, P. V. (2018). The role of the gut microbiota on animal model reproducibility. *Animal Models and Experimental Medicine*, 1(2), 109-115.
- Vera-Mejía, R., Ormazza-Donoso, J., Muñoz-Cedeño, J., Arteaga-Chávez, F., & Sánchez-Miranda, L. (2018). Cepas de Lactobacillus plantarum con potencialidades probióticas aisladas de cerdos criollos. *Revista de Salud Animal*, 40(2), 1-12.
- Wang, G., Song, Q., Huang, S., Wang, Y., Cai, S., Yu, H., Ding, X., Zeng, X., & Zhang, J. (2020). Effect of antimicrobial peptide microcin J25 on growth performance, immune regulation, and intestinal microbiota in broiler chickens challenged with escherichia coli and salmonella. *Animals*, 10(2), 345. <https://doi.org/10.3390/ani10020345>
- Wang, X., Wang, W., Lv, H., Zhang, H., Liu, Y., Zhang, M., Wang, Y., & Tan, Z. (2020). Probiotic Potential and Wide-spectrum Antimicrobial Activity of Lactic Acid Bacteria Isolated from Infant Feces. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 13, 90-101. <https://doi.org/10.1007/s12602-020-09658-3>
- Yang, X., Pan, X., Jia, Z., Bai, B., Zhi, W., Chen, H., Ma, C., & Ma, D. (2022). Oral administration of Lactobacillus brevis 23017 combined with ellagic acid attenuates intestinal inflammatory injury caused by Eimeria infection by activating the Nrf2/HO-1 antioxidant pathway. *Veterinary Research*, 53(1), 21. <https://doi.org/10.1186/S13567-022-01042-Z>
- Zapata, I. C., Sepúlveda-Valencia, U., & Rojano, B. A. (2015). Efecto del tiempo de almacenamiento sobre las propiedades fisicoquímicas, probióticas y antioxidantes de yogurt saborizado con mortiño (*Vaccinium meridionale* Sw). *Información tecnológica*, 26(2), 17-28. DOI: 10.4067/S0718-07642015000200004
- Ziyaei, K., & Hosseini, S. V. (2021). Review of hydrolyzed protein from fishery by-product: Production methods, application and Biological Properties. *Iranian journal of food science and technology*, 18(111), 383-395. DOI: 10.29252/fsct.18.02.30