



ADICIÓN DE DOS COMPLEJOS ENZIMÁTICOS A RACIONES CON HARINA DE SOYA (*Glycine max* L.) CON DIFERENTE SOLUBILIDAD DE PROTEÍNA Y RESPUESTA PRODUCTIVA EN POLLOS DE ENGORDE

[ADDITION OF TWO ENZYMATIC COMPLEX IN DIETS WITH SOYBEANS (*Glycine max* L.) MEAL WITH DIFFERENT PROTEIN SOLUBILITY AND PERFORMANCE OF BROILERS]

Marco Nuñez^a, Álvaro Ojeda^{a*}, Humberto Araque^a, Mario Rossini^b, Isamery Machado^a and Vasco De Basilio^a

^aFacultad de Agronomía, Universidad Central de Venezuela.
Apdo. Postal 4579. Maracay 2101, Venezuela.

^bFacultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Central de Venezuela.
Apdo. Postal 4563. Maracay 2101, Venezuela.

E-mail: ajojeda99@yahoo.com

*Corresponding author

RESUMEN

Para evaluar el efecto de un complejo enzimático exógeno (CEE) en raciones con harina de soya con diferente solubilidad de proteína sobre la respuesta productiva de pollos de engorde, 990 pollos Cobb desde 8 a 42 días fueron asignados en un diseño completamente aleatorizado con arreglo factorial 3x2, a raciones conteniendo harina de soya con 73, 80 y 86% de solubilidad en KOH, con (Soya73E, Soya80E y Soya86E) o sin (Soya73, Soya80 y Soya86) adición *on top* de un CEE fibrolítico (Allzyme SSF[®]) y proteolítico (Allzyme VegPro[®]). CEE no afectó la variación de peso vivo (58.9 ± 1.2 g/anim/d), conversión de alimento (1.95 ± 0.04), viscosidad (1.35 ± 0.07 cps) ni pH intestinal (6.5 ± 0.1), incrementando el consumo en Soya86 en 3.5 y 2.8% para finalización y ciclo total. CEE aumentó la profundidad de criptas ($P=0.052$) en 7.1%, con menor presencia de lesiones en Soya73. La adición CEE aumentó el consumo cuando la harina de soya presentó menor procesamiento térmico, e incrementó la profundidad de las criptas en vellosidades intestinales, sin afectar variación de peso vivo, conversión de alimento, pH ni la viscosidad intestinal.

Palabras clave: enzimas; peso vivo; viscosidad; vellosidades.

INTRODUCCIÓN

La harina o torta de soya (*Glycine max* L.) es uno de los subproductos agroindustriales de mayor uso en la formulación de raciones balanceadas para pollos de engorde. Dicho material posee una amplia gama de metabolitos secundarios, donde destacan saponinas,

SUMMARY

To evaluate the effect of two exogenous enzymatic complex (EEC) in diets with soybean meal with different protein solubility on the performance of broilers, 990 Cobb chickens from 8 to 42 days were assigned in a completely randomly design with factorial arrangement 3x2, to diets with soybean meal with 73, 80 and 86% of KOH solubility, and the on top addition (Soy73E, Soy80E and Soy86E) or not (Soy73, Soy80 and Soy86) of a proteolytic (Allzyme VegPro[®]) and fibrolytic (Allzyme SSF[®]) EEC. The EEC did not affect ($P>0.05$) live weight variation (58.9 ± 1.2 g/anim/d), feed conversion (1.95 ± 0.04), viscosity (1.35 ± 0.07 cps) neither intestinal pH (6.5 ± 0.1), increasing the intake on Soy 86 in 3.5 and 2.8% for finishing and total cycle. EEC increased the crypts depth ($P=0.052$) on 7.1%, and intestinal lesions were lower on Soy73. The EEC addition increased the feed intake when soybean meal had the lower thermal processing, and increased the crypts depth in intestinal villi, without variations in live weight, feed conversion, pH neither intestinal viscosity.

Key words: enzymes; live weight; viscosity; villi.

lectinas, factores antitiroideos, lipoxidasas, inhibidores de tripsina, hemoaglutininas y polisacáridos no amiláceos (PNA), entre otros (Oliveira *et al.*, 2006). Si bien es cierto su tratamiento térmico es la alternativa más difundida para inactivar la mayoría de estos metabolitos secundarios, éste puede provocar la glucosilación no

enzimática de las proteínas, generando factores antinutricionales denominados compuestos de Maillard, además de alterar las propiedades físicas de los PNA lo que impacta su valor funcional en el tracto digestivo (Sung-Hee *et al.*, 2009). Debido a lo anterior, tradicionalmente la determinación de solubilidad de la proteína en KOH y la actividad ureásica se emplean como indicadores de la calidad nutricional del material procesado (Ortíz, 2009).

Los PNA son compuestos no degradables por las enzimas endógenas, y se asocian a una mayor secreción de mucus intestinal, lo que genera incremento de la viscosidad intestinal, mayor secreción pancreático-biliar y disminución en la capacidad de absorción de nutrientes (Boros *et al.*, 1993; Malathi y Devegowda, 2001). Las dietas con base en maíz-soya son consideradas de alta digestibilidad, sin embargo ambas materias primas contienen PNA como α -galactósidos (rafinosa, estaquirosa y verbascosa), β -glucanos, sustancias pécticas, celulosa, hemicelulosa y xilanos, entre otros (Slominski, 2011). La incorporación a la ración de complejos enzimáticos exógenos (CEE) con diferentes especificaciones químicas ha sido propuesta como una alternativa tecnológica para reducir el impacto negativo de los metabolitos secundarios sobre el comportamiento productivo de pollos de engorde alimentados con dietas con base en soya (García *et al.*, 2000; Oliveira *et al.*, 2006), a partir de una mejora en el consumo y la digestibilidad de los nutrientes, reducción de la viscosidad intestinal, aumento de la tasa de pasaje de la digesta, disminución del peso del tracto digestivo y mejora general en la salud intestinal, esto último particularmente referido a su positivo impacto sobre las vellosidades intestinales (Lázaro *et al.*, 2004; Hooge *et al.*, 2010).

Entre los CEE de mayor difusión se encuentran los destinados a fuentes proteicas vegetales, y los de fermentación en estado sólido. Los primeros mejoran la digestibilidad de la energía, proteína y aminoácidos, señalándose que garantizan un aumento de 4.17% en la supervivencia de pollos de engorde, con una disminución en la humedad de las excretas (Slominski, 2011). Los de fermentación en estado sólido, dirigidos principalmente a los componentes estructurales de las fracciones vegetales de la ración, incluyen en su composición amilasa, β -glucanasa, celulasa, pectinasa, fitasa, proteasa fúngica y xilanas, generando incrementos de peso durante el ciclo de 3.73%, con una mejora de 2.64% en la conversión de alimento (Wu *et al.*, 2003). Adicionalmente, y a partir de la reformulación de las dietas que incluyen estos CEE, se reducen las necesidades de energía metabolizable en 75 kcal/kg, así como 0.1% calcio, 0.1% fósforo disponible y 1% de aminoácidos esenciales (Hooge *et al.*, 2010). Meng y Slominski

(2005) han postulado que el uso combinado de complejos enzimáticos de carácter fibrolítico y proteolítico en dietas con base en maíz-soya puede generar un incremento en la digestibilidad ileal de las proteínas, como resultado de un aumento en la liberación de proteínas estructurales, tales como las glicoproteínas.

A pesar de lo anterior, diversos estudios no han evidenciado mejoras en la respuesta productiva de pollos de engorde alimentados con dietas a base maíz-soya a las que se adicionan diferentes combinaciones de CEE, lo cual puede estar asociado a una interacción entre el complejo enzimático y la fuente de harina de soya, esto último en relación a las variaciones en su contenido de energía digestible (Douglas *et al.*, 2000). En este sentido, Malathi y Devegowda (2001) señalan que la eficacia de estos aditivos depende de la especificidad del sustrato, por lo que requieren de una constante evaluación para garantizar una adecuada respuesta bioeconómica en los sistemas de producción.

El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de la adición de dos complejos enzimáticos sobre la respuesta productiva (consumo voluntario, peso vivo y conversión de alimento), viscosidad intestinal y morfometría de las vellosidades intestinales en pollos de engorde alimentados con raciones que incluyen harina de soya con diferente solubilidad de su proteína.

MATERIALES Y MÉTODOS

Ubicación, animales y manejo

La evaluación se realizó en las instalaciones de la Sección-Laboratorio de Aves (10°16'48.96" N, 67°35'57.70" O) de la Facultad de Agronomía de la Universidad Central de Venezuela, localizada a unos 452 msnm, con promedio anual de temperatura, precipitación y humedad relativa de 25.1°C, 1068 mm y 78.3%, respectivamente (INIA 2011).

Se emplearon 990 pollos Cobb-500, machos y hembras de un día de edad, pesados individualmente con una balanza electrónica (marca Kern, mod. FBK, capacidad 65 kg \pm 1 g). Con una densidad de 8.3 aves/m², los animales fueron estratificados por peso para ser ubicados en 30 corrales de 4 m², acondicionados con cama de cascarilla de arroz de unos 10 cm de profundidad, suministro de calor (34 a 28°C) durante los primeros 7 d de evaluación mediante lámpara criadora con bombillo de 200 *watts*, comedero tipo plato y bebederos de galón, sustituidos luego por comederos tipo tolva y bebederos automáticos tipo campana regulados periódicamente tomando en consideración la altura de los animales. Se vacunó contra Newcastle (cepa La

Sota, Avinew[®]) y Gumboro (Bursa-Vac[®]) a los 8 días de edad, aplicando un refuerzo el día 14. Ambas aplicaciones se efectuaron en el agua de bebida, empleando las dosis recomendadas por los fabricantes.

Alimentación y diseño del experimento

Para la elaboración de las raciones experimentales, en muestras de harina de soya se determinó el contenido de proteína cruda (AOAC, 1990), solubilidad de la proteína en KOH (Araba y Dale, 1990) y actividad ureásica (AOAC, 1990). Esta evaluación preliminar permitió identificar dos tipos de soya con similar contenido de proteína cruda ($45.1 \pm 0.19\%$) y

actividad ureásica (0.05 ± 0.01), pero con solubilidad en KOH de 73 y 86.5%. Considerando como óptima una solubilidad en KOH para la harina de soya de 75 a 85% (Araba y Dale, 1990), de la mezcla de las dos anteriores se obtuvo un tercer tipo de harina de soya con 80% de solubilidad de la proteína. A partir de las necesidades nutricionales para pollos de engorde (Coob, 2012), se formularon seis raciones experimentales (Tablas 1 y 2), tres con solubilidad en KOH de la proteína de 73% (Soya73), 80 (Soya 80) y 86% (Soya86), y el resto similares a las anteriores pero con la adición simultánea de dos CEE (Soya73E, Soya80E y Soya86E).

Tabla 1. Composición (g/100 g MS) de las dietas experimentales para pollos de engorde en iniciación (8-21 días).

Ingredientes / Tratamiento	Soya73	Soya80	Soya86	Soya73E	Soya80E	Soya86E
Maíz amarillo	50.16	50.16	50.16	50.16	50.16	50.16
Harina de soya	40.50	40.50	40.50	40.50	40.50	40.50
Sebo bovino	4.70	4.70	4.70	4.70	4.70	4.70
Fosfato monodivale	1.90	1.90	1.90	1.90	1.90	1.90
Calcio (38%)	1.50	1.50	1.50	1.50	1.50	1.50
Premix mineral/vitaminas ¹	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
DL-Metionina (98%)	0.34	0.34	0.34	0.34	0.34	0.34
Sal	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20
L-Lisina (80%)	0.14	0.14	0.14	0.14	0.14	0.14
L-Treonina (98.5%)	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06
CCE-1	-	-	-	0.02	0.02	0.02
CCE-2	-	-	-	0.10	0.10	0.10
Análisis calculado ²						
Energía metabolizable ³	2927	2927	2927	2926	2926	2926
Metionina	0.61	0.61	0.61	0.62	0.62	0.62
Metionina+Cistina	0.98	0.98	0.98	0.99	0.99	0.99
Lisina	1.39	1.39	1.39	1.40	1.40	1.40
Treonina	0.94	0.94	0.94	0.94	0.94	0.94
Triptófano	0.29	0.29	0.29	0.29	0.29	0.29
Análisis determinado						
Proteína bruta	23.2	24.4	23.5	23.2	23.4	24.1
Fibra bruta	2.82	3.61	2.62	2.82	3.61	2.62
Extracto etéreo	5.91	5.22	5.23	5.91	5.22	5.23
Calcio	0.97	0.97	0.97	0.98	0.98	0.98
Fosforo	0.84	0.84	0.84	0.85	0.85	0.85

CCE-1: complejo multienzimático exógeno de acción sobre polisacáridos no amiláceos (Allzyme SSF[®]. Alltech Inc., Kentucky USA); CCE-2: complejo multienzimático exógeno de acción sobre fuentes proteicas de origen vegetal (Allzyme VegPro[®]. Alltech Inc., Kentucky USA).

¹ Niveles de garantía por kilo de producto (según fabricante): 10000000 UI vit A, 2000000 UI vit D₃, 30000 UI vit E, 2 g vit B1, 4 g vit B6, 12 g ácido pantoténico, 0.1 g biotina, 3 g vit K₃, 1 g ácido fólico, 50 g ácido nicotínico, 15000 mcg vit B₁₂, 0.25 g selenio, 16 g Fe, 100 g Mn, 100 g Zn, 20 g Cu, 2 g Co, 2 g I y vehículo q. s. p - 1000 g.

² De acuerdo a Rostagno *et al.* (2005)

³ Expresada en kcal /kg MS.

Tabla 2. Composición (g/100 g MS) de las dietas experimentales para pollos de engorde en finalización (22-42 días)

Ingredientes/Tratamiento	Soya73	Soya80	Soya86	Soya73E	Soya80E	Soya86E
Maíz amarillo	56.74	56.74	56.74	56.74	56.74	56.74
Harina de soya	31.90	31.90	31.90	31.90	31.90	31.90
Sebo bovino	7.20	7.20	7.20	7.20	7.20	7.20
Fosfato monodivale	1.60	1.60	1.60	1.60	1.60	1.60
Calcio (38%)	1.40	1.40	1.40	1.40	1.40	1.40
Premix mineral/vitaminas ¹	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
DL-Metionina (98%)	0.29	0.29	0.29	0.29	0.29	0.29
Sal	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20
L-Lisina (80%)	0.12	0.12	0.12	0.12	0.12	0.12
L-Treonina (98.5%)	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05
CCE-1	-	-	-	0.02	0.02	0.02
CEE-2	-	-	-	0.10	0.10	0.10
Análisis calculado²						
Energía metabolizable ³	3123	3123	3123	3119	3119	3119
Metionina	0.53	0.53	0.53	0.53	0.53	0.53
Metionina+Cistina	0.85	0.85	0.85	0.85	0.85	0.85
Lisina	1.14	1.14	1.14	1.14	1.14	1.14
Treonina	0.75	0.75	0.75	0.75	0.75	0.75
Triptófano	0.19	0.19	0.19	0.19	0.19	0.19
Análisis determinado						
Proteína bruta	19.3	19.0	19.5	19.4	19.2	19.6
Fibra bruta	3.12	2.93	2.9	3.12	2.93	2.95
Extracto etéreo	4.23	4.14	4.61	4.23	4.14	4.61
Calcio	0.87	0.87	0.87	0.87	0.87	0.87
Fosforo	0.73	0.73	0.73	0.73	0.73	0.73

CCE-1: complejo multienzimático exógeno de acción sobre polisacáridos no amiláceos (Allzyme SSF[®]. Alltech Inc., Kentucky USA); CCE-2: complejo multienzimático exógeno de acción sobre fuentes proteicas de origen vegetal (Allzyme VegPro[®]. Alltech Inc., Kentucky USA).

¹ Niveles de garantía por kilo de producto (según fabricante): 10000.000 UI vit A, 2000000 UI vit D3, 30000 UI vit E, 2 g vit B1, 4 g vit B6, 12 g ácido pantoténico, 0.1 g biotina, 3 g vit K₃, 1 g ácido fólico, 50 g ácido nicotínico, 15000 mcg vit B12, 0.25 g selenio, 16 g Fe, 100 g Mn, 100 g Zn, 20 g Cu; 2 g Co; 2 g I y vehículo q. s. p - 1000 g.

² De acuerdo a Rostagno *et al.* (2005)

³ Expresada en kcal /kg MS.

Respecto a los CEE, uno estuvo dirigido principalmente a la ruptura de las cadenas de PNA (Allzyme SSF[®]), con una composición reportada por el fabricante de: amilasa (30 FAU/g), β -glucanasa (200 BGU/g), celulasa (40 CMCU/g), pectinasa (4000 AJDU/g), fitasa (300 SPU/g), proteasa fúngica (700 HUT/g) y xilanasa (100 XU/g). El otro, diseñado para mejorar la utilización de fuentes proteicas de origen vegetal (Allzyme VegPro[®]), y de acuerdo al fabricante contenía celulasa (44 CMCU/g) y proteasa (7500 HUT/g). Los CEE fueron incorporados *on top* a la ración (Hooge *et al.*, 2010), a razón de 200 y 1000 g/ton de alimento, respectivamente. Todos los animales fueron sometidos a una ración comercial en la fase de preinicio (1 a 7 días), y suministro de las raciones experimentales en forma de harina durante las fases de inicio (8 a 21 días) y finalización (22 a 42 días). La oferta de alimento y agua se efectuó *ad libitum* durante todo el ciclo de producción,

colectándose muestras de los alimentos para ser evaluadas en función al análisis químico proximal (AOAC, 1990), calcio (Fick *et al.*, 1979) y fósforo (Fiske y Subarrow, 1925).

El experimento se ajustó a un diseño completamente aleatorizado con arreglo factorial 3x2, considerando tres niveles del factor solubilidad de la proteína de harina de soya (73, 80 y 86%), y dos del factor CEE (con o sin adición). Cada tratamiento contó con 5 unidades experimentales, constituida cada una por un corral con 33 aves.

Variación de peso, consumo y conversión de alimento.

Estas variables se registraron semanalmente, previo retiro de los comederos de cada corral. Empleando la balanza electrónica antes descrita, el peso vivo se

obtuvo luego de ayuno de las aves durante 4 h, mientras el consumo se estimó por diferencia entre el alimento ofrecido y el rechazado. La conversión de alimento se derivó de la relación entre variación de peso y consumo.

Viscosidad *in vivo* e *in vitro*

La viscosidad *in vivo* se registró los días 21 y 42 del ciclo productivo, sacrificando por dislocación cervical 2 aves (machos) por cada corral, para posteriormente extraer la digesta contenida en la sección del intestino delgado comprendida entre el final del asa duodenal y el divertículo de Meckel (Lázaro *et al.*, 2004). El material colectado fue colocado en tubos de ensayo (50 ml) e inmediatamente trasladado al laboratorio, donde luego de determinar el pH (potenciometro Marca Orion Research, modelo: EA 940) fueron centrifugados (12000 rpm/3 min) a 4°C, para posteriormente extraer una alícuota de 0.5 ml del sobrenadante donde se determinó la viscosidad empleando un viscosímetro Brookfield DV-II+PRO con aguja CPE 40 y módulo de lectura a temperatura constante de 40°C (Bedford y Classen, 1993).

Para la determinación de la viscosidad *in vitro* (Boros *et al.*, 1993), 1 g de muestra de alimento de iniciación fue molida en criba con diámetro de 1 mm, para luego ser colocado por triplicado en tubos de ensayo (50 ml) donde se adicionaron 4 ml de 0.2 M de solución buffer fosfato a pH 4.8, agitando la suspensión a 40°C durante 4 h en una plancha de calentamiento. Transcurrido este lapso, la suspensión fue centrifugada a 13000 rpm/15 min a 4°C, para posteriormente registrar la viscosidad a 40°C de acuerdo a rutina anteriormente descrita.

Para los tratamientos con adición de enzimas, los CEE fueron disueltos a razón de 0.0012 g por cada 4 ml en solución buffer fosfato 0.2 M a pH 4.8, siendo mantenidos con agitación durante 1 h a temperatura ambiente, para posteriormente ser centrifugados a 3000 x g durante 15 min (Zhang *et al.*, 2000). El sobrenadante, fue agregado a tubos de ensayo con 1 g de muestra de las raciones experimentales, para luego seguir el procedimiento anteriormente descrito.

Integridad y morfometría de vellosidades intestinales

El día 38 del ciclo productivo se tomaron muestras del tracto gastrointestinal de un ave por corral, las cuales fueron seleccionadas al azar dentro del grupo de animales con peso similar al promedio del lote. Luego de sacrificadas, de cada ave se extrajo una porción del intestino delgado (aprox. 3 cm del duodeno) que fue conservada en formol neutro al 10%, y procesada de acuerdo a la técnica de coloración Hematoxilina-Eosina (Prophet *et al.*,

1995). Partiendo de imágenes captadas mediante un Fotomicroscopio Trinocular (Nikon Eclipse, Modelo E400) provisto de montura y cámara digital Nikon Coolpix 950 de 2.1 Mpx, se evaluaron las lesiones (erosión, edema, infiltración y sinequia, entre otras) presentes en las vellosidades, asignando valores de acuerdo al nivel de gravedad, a saber: sin lesión aparente (0), leve (1), moderada (2) y grave (3).

Las variables asociadas a la morfometría de las vellosidades intestinales (altura, área aparente, ancho promedio y profundidad de la cripta) se evaluaron a partir de imágenes de los cortes histológicos captadas con una cámara Panasonic de 7.2 Mpx (modelo Lumix DMC-L27, aumento de 2X y lente de 12.5X) adosada a un microscopio de luz (marca OLIMPUS, modelo: CX41) con lente de 40X. Dichas imágenes fueron analizadas con el programa ImageJ versión 1.31 (Collins, 2007).

Análisis estadístico

La información fue analizada por medio de un ANOVA, empleando el procedimiento GLM de SAS (SAS, 1992). Las diferencias significativas entre tratamientos y sus interacciones fueron determinadas a través de la Prueba de Rango Múltiple Tukey (Steel y Torrie, 1985). Las características de las vellosidades intestinales se evaluaron mediante estadística no paramétrica, empleando la prueba de Kruskal-Wallis (Siegel y Castellan, 1995).

El porcentaje de machos en cada réplica fue considerado como co-variable para el análisis de los parámetros productivos (ganancia de peso, consumo y conversión de alimento), descartando su empleo en virtud a la no existencia de efectos significativos (P= 0.89).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Consumo de alimento

Durante la fase de inicio no hubo diferencias entre tratamientos en el consumo voluntario (Tabla 3), alcanzando un valor de 883.3 ± 6.0 g/anim. En finalización, y durante todo el ciclo productivo (8-42 días), el tratamiento Soya80 presentó la mayor ingesta de alimento (3136 y 4016 g/anim, respectivamente). En ambas fases, la adición del CEE no evidenció una respuesta lineal (P<0.05), generando el aditivo un incremento del consumo en Soya86 de 3.5 y 2.8% para finalización y ciclo productivo, respectivamente. Paralelamente, se observa como el CEE redujo el consumo en Soya80 en niveles de 5.7 y 4.5% para finalización y ciclo productivo, respectivamente.

Una reducción en el consumo debido a la adición de CEE a una ración con soya de adecuado

procesamiento térmico (Soya80) puede asociarse al incremento en la energía disponible a consecuencia de la actividad de las enzimas exógenas incorporadas (García *et al.*, 2000). En el caso de soya subprocesada (Soya86), probablemente la mejora en la ingesta se asocia a la actividad de las enzimas proteolíticas exógenas sobre algunos metabolitos secundarios presentes en este tipo de material, y que se identifican como la principal limitante al consumo voluntario (Oliveira *et al.*, 2006).

Variación de peso

En la fase de inicio la variación de peso vivo se vio afectada por el tipo de soya (P<0.01), sin efecto del

CEE (Tabla 3). En este sentido, e independientemente de la adición de CEE, comparados con el tratamiento Soya86, se observó una reducción de 5.9 y 2.4% en la variación de peso vivo para Soya73 y Soya80, respectivamente. Este efecto coincide con estudios conducidos con pollos de 1 a 21 días alimentados con raciones basadas en harina de soya de diferente solubilidad en su proteína (Oliveira *et al.*, 2006), donde se observó una reducción (P<0.05) de la ganancia diaria de peso (27.9 y 26.9%) y del consumo voluntario (7.4 y 8.8%) cuando la harina de soya control con solubilidad en KOH de 88%, fue sustituida por harinas con solubilidades de 91 y 66%, respectivamente.

Tabla 3. Respuesta productiva de pollos de engorde alimentados con base en harina de soya y adición de dos complejos enzimáticos

Fase (días)	Tratamientos						EEM	Factores		
	Soya73	Soya80	Soya86	Soya73E	Soya80E	Soya86E		S	E	S*E
Consumo (g MS/anim)										
8-21	895	880	879	884	879	883	13.28	0.54	0.14	0.97
22- 42	3044 ^{ab}	3136 ^a	2911 ^b	2993 ^{ab}	2958 ^b	3012 ^{ab}	66.13	0.02	0.37	0.01
8-42	3939 ^{ab}	4016 ^a	3790 ^b	3878 ^{ab}	3837 ^{ab}	3895 ^{ab}	66.96	0.17	0.35	0.02
Variación de peso (g/anim)										
8-21	578 ^{bc}	598 ^{abc}	609 ^a	561 ^c	584 ^{abc}	602 ^{ab}	36.58	0.01	0.14	0.06
22- 42	1404	1463	1399	1383	1398	1434	44.75	0.62	0.79	0.89
8-42	1982	2062	2008	1945	1982	2036	37.57	0.12	0.37	0.31
Conversión de alimento										
8-21	1.55 ^{ab}	1.47 ^{bc}	1.44 ^c	1.58 ^a	1.51 ^{ab}	1.47 ^c	0.03	0.01	0.60	0.05
22- 42	2.17	2.14	2.08	2.16	2.12	2.10	0.05	0.58	0.81	0.99
8-42	1.99 ^a	1.95 ^a	1.89 ^b	1.99 ^a	1.94 ^a	1.91 ^b	0.04	0.01	0.34	0.87

S: soya; E: enzima; S*E: interacción soya*enzima

EEM: error estándar de la media

^{a,b,c}Medias con literales diferentes en la misma fila indican diferencia significativa (*P<0.05)

Una mayor actividad de factores antitripsínicos, y consecuentemente una hipertrofia del páncreas, se presentan como las principales razones del menor desempeño de las aves en inicio ante raciones con procesamiento térmico deficiente de la soya (Oliveira *et al.*, 2006). Para el caso de la fase de finalización, y al evaluar todo el ciclo productivo, el tipo de soya y la adición de CEE no afectaron la variación del peso, respuesta que coincide con estudios similares

realizados con dietas con base en maíz-soya (Schang *et al.*, 1997; Ortíz, 2009). La utilización de raciones con niveles de proteína cruda ajustados a lo establecido para pollos de engorde, y la suplementación con lisina sintética en niveles superiores a las necesidades, han sido señalados como condiciones que reducen el impacto sobre el peso vivo pollos de engorde de un tratamiento térmico deficiente de la harina de soya (Ortíz, 2009).

Conversión de alimento

En la fase de inicio y durante el ciclo productivo, e independientemente de la adición del CEE, la conversión de alimento se incrementó ($P < 0.05$) al reducirse la solubilidad de la proteína de la harina de soya. Cuando se comparan los tratamientos Soya86 y Soya73, este aumento fue de $7.6 \pm 0.9\%$ y $5.2 \pm 0.4\%$ para ambas fases, respectivamente. En finalización no se observaron efectos del tipo de soya y la adición de CEE sobre la conversión de alimento, con un valor de 2.12 ± 0.03 . En general, y probablemente producto del manejo de los animales bajo condiciones climáticas no controladas que afectan sensiblemente el consumo de alimento, la conversión de alimento se alejó de lo esperado para la línea genética empleada (Cobb, 2012).

Adicionalmente, es conocido que el tratamiento térmico excesivo de la soya reduce la solubilidad de la proteína debido a su desnaturalización o a la formación de complejos insolubles, lo que impacta directamente la disponibilidad de los aminoácidos, generando un deterioro de la conversión de alimento cuando se emplean harinas de soya con proteína de baja solubilidad (Ortiz, 2009; Oliveira *et al.*, 2006).

Viscosidad y pH intestinal

Tal como se observa en la Tabla 4, a nivel intestinal la viscosidad *in vivo* e *in vitro* y el pH de la digesta no presentaron diferencias significativas entre tratamientos, este último indicador localizado dentro de los rangos normales para la especie y estados fisiológicos considerados en el presente estudio (Macari *et al.*, 2002). Si bien estos resultados coinciden con estudios similares donde no se evidenció efecto de la adición de un CEE sobre la viscosidad intestinal en pollos de engorde (González, 2008; Pérez, 2009), Ramesh y Devegowda (2004) señalan que pollos de engorde con una dieta maíz-soya presentan una reducción (2.45 a 1.4 cps; $P < 0.01$) en dicho parámetro a consecuencia de la inclusión de un CEE. Los valores de viscosidad intestinal obtenidos en la presente investigación se presentan inferiores a los indicados por Ramesh y Devegowda (2004), lo que probablemente se asocia a la variación regional que existe en el contenido de

PNA de la harina de soya (Mateos *et al.*, 2009), y puede explicar la baja respuesta a los CEE evaluados.

Morfometría de vellosidades intestinales

No se observaron diferencias entre tratamientos respecto a la altura ($897.2 \pm 84.4 \mu\text{m}$), área aparente ($80954.2 \pm 11215.1 \mu\text{m}^2$) y ancho basal ($94.0 \pm 7.7 \mu\text{m}$) de las vellosidades intestinales (Tabla 5). Esto coincide con estudios conducidos por Rebole *et al.* (2010) en pollos de engorde que muestran la ausencia de efecto de la adición de un CEE sobre algunas variables morfométricas de las vellosidades intestinales (altura, ancho y densidad de vellosidades). En general, los valores obtenidos son similares a los referidos por Pérez (2009) para pollos de engorde de 21 y 35 días.

Independientemente de la adición de CEE, el tratamiento Soya86 presentó un incremento ($P < 0.05$) de 33.6% en la profundidad de la cripta respecto a los restantes tratamientos. Por otra parte, la profundidad de la cripta tiende ($P = 0.052$) a incrementar en 7.1% a consecuencia del uso de CEE. Un aumento en esta variable morfométrica se asocia con una mayor capacidad de recambio celular en la mucosa intestinal, y potencialmente, con una mayor capacidad de absorción de nutrientes en animales bajo condiciones de estrés fisiológico (Macari *et al.*, 2002).

Integridad de las vellosidades intestinales

Tal como se observa en la Tabla 5, el tipo de soya afectó ($P < 0.05$) la integridad de las vellosidades intestinales, con una mayor presencia de lesiones en los pollos en Soya86 (Figura 1).

Esta respuesta es posiblemente debida a una mayor proporción de metabolitos secundarios termolábiles activos en el tratamiento que contiene la harina de soya con menor intensidad de procesamiento térmico (Fisher, 2002; Ortiz, 2009). A pesar de lo anterior, no se observó una asociación entre nivel de lesiones y los parámetros productivos considerados, sugiriendo que bajo el manejo alimentario de los animales en el presente estudio no hubo un impacto directo sobre la absorción de nutrientes.

Tabla 4. Viscosidad y pH intestinal en pollos de engorde alimentados con base en harina de soya y adición de dos complejos enzimáticos

Variable	Tiempo (días)	Tratamientos						Factores				
		Soya73	Soya80	Soya86	Soya73E	Soya80E	Soya86E	EEM	S	E	S*E	
Viscosidad (cps)												
<i>In vivo</i>	21	1.4	1.31	1.32	1.25	1.39		1.45	0.12	0.79	0.75	0.30
	42	1.38	1.34	1.39	1.32	1.27		1.31	0.07	0.62	0.12	0.91
<i>In vitro</i>	21	0.89	0.89	0.91	0.9	0.93		0.96	0.01	0.89	0.55	0.33
pH	21	6.6	6.5	6.4	6.6	6.6		6.7	0.12	0.99	0.19	0.20
	42	5.7	5.9	5.9	5.8	5.9		5.7	0.09	0.15	0.35	0.31

S: soya, E: enzima, S*E: interacción soya*enzima

EEM: error estándar de la media

Tabla 5. Morfometría y lesiones en vellosidades intestinales de pollos de engorde alimentados con base en harina de soya y adición de dos complejos enzimáticos

Variables	Tratamientos						Factores			
	Soya73	Soya80	Soya86	Soya73E	Soya80E	Soya86E	EEM	S	E	S*E
Morfometría (µm)										
Altura	917	777	952	825	1009	903	86.23	0.65	0.55	0.07
Área (x10 ³)	92.3	66.4	94.6	71.1	79.3	82.1	11.96	0.21	0.33	0.13
Ancho	102	90	99	91	82	100	7.55	0.06	0.17	0.49
PC	154 ^b	169 ^b	211 ^a	164 ^b	176 ^b	232 ^a	30.31	0.05	0.05	0.06
Lesiones ⁶	0 ^a	1 ^{ab}	2 ^b	0 ^a	1 ^{ab}	2 ^b		0.04	0.11	0.23

S: soya; E: enzima; S*E: interacción soya*enzima; PC: profundidad de la cripta

EEM: error estándar de la media

^{a,b,c}Medias con literales diferentes en la misma fila indican diferencia significativa (*P<0.05)

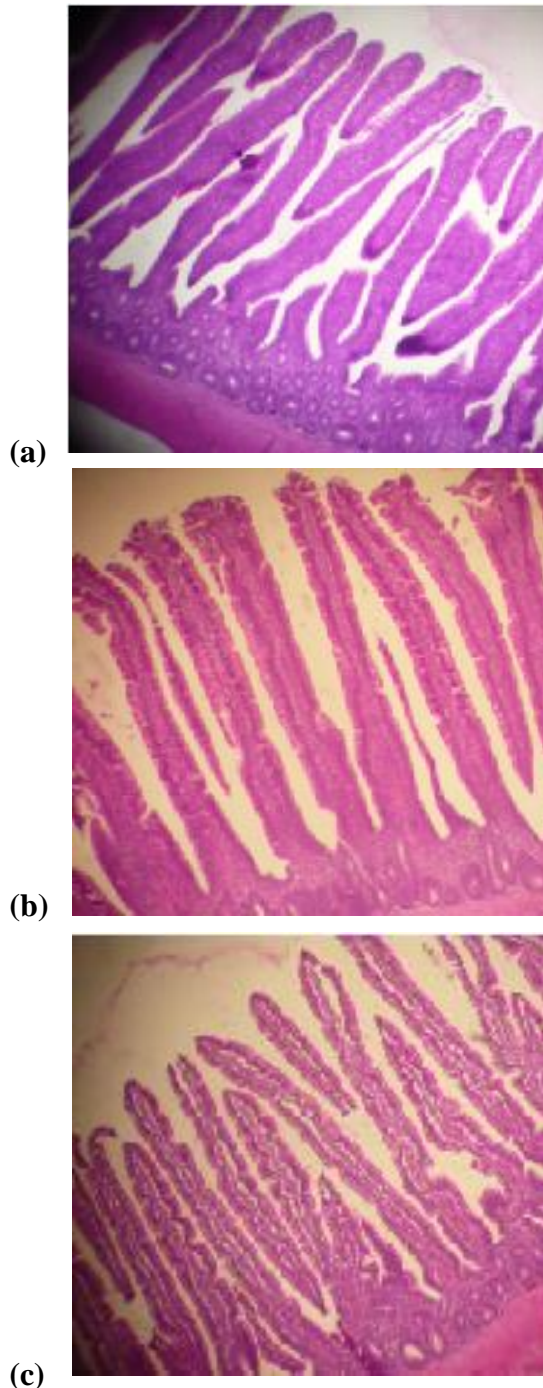


Figura 1. Cortes histológicos de vellosidades intestinales de pollos de engorde alimentados con base en harina de soya con solubilidad en KOH de 73 (a), 80 (b) y 86% (c)

CONCLUSIONES

La adición de complejos enzimáticos proteolíticos y fibrolíticos a dietas para pollos de engorde que incluyen harina de soya con diferente solubilidad de su proteína generó un aumento en el consumo voluntario cuando se empleó una harina de soya con menor procesamiento térmico (86% solubilidad en KOH), e incrementó la profundidad de las criptas de las vellosidades intestinales, sin afectar la variación de peso vivo, conversión de alimento, pH ni la viscosidad intestinal.

Agradecimiento

Los autores desean expresar su agradecimiento a Alltech Venezuela, S.C.S. y al Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico de la Universidad Central de Venezuela (Proyecto CDCH N° PG-01-8111-2011) por el apoyo financiero para la realización de esta investigación.

REFERENCIAS

- AOAC. 1990. Official Methods of Analysis. 17th Ed. Vol. II. Kennet Helrich (Ed.). Association of Official Analytical Chemists. Washington, DC. 69-88 pp.
- Araba, M., Dale, N.M. 1990. Evaluation of protein solubility as an indicator of overprocessing of soybean meal. *Poultry Science*. 69: 76-83.
- Bedford, M.R., Classen, H.L. 1993. An in vitro assay for prediction of broiler intestinal viscosity and growth when fed rye-based diets in the presence of exogenous enzymes. *Poultry Science*. 72: 137-143.
- Boros, D., Marquardt, R.R., Slominski, B.A., Guenter, W. 1993. Extract viscosity as an indirect assay for water-soluble pentosan content in rye. *Cereal Chemistry*. 70: 575-580.
- Coob, 2012. Suplemento Informativo de Rendimiento y Nutrición del Pollo de Engorde Cobb 500. Cobb Vantres Inc. Arkansas, EUA. 2-4 pp.
- Collins, T.J. 2007. ImageJ for microscopy. *BioTechniques*. 43 (1 Suppl): S25-S30.
- Douglas, M.W., Parsons, C.M., Bedford, M.R. 2000. Effect of various soybean meal sources and Avizyme on chick growth performance and ileal digestible energy. *The Journal of Applied Poultry Science*. 9: 74-80.

- Fick, K., Mcdowell, L., Miles, P., Wilkinson, N., Funk, J., Conrad, J. 1979. Métodos de Análisis de Minerales Para Tejidos de Plantas y Animales. 2ª ed. Universidad de Florida, Gainesville, EUA. 25-45 pp.
- Fischer, G., Maier, J.C., Rutz, F., Bermudez, V.L. 2002. Desempenho de frangos de corte alimentados com dietas à base de milho e farelo de soja, com ou sem adição de enzimas. Revista Brasileira de Zootecnia. 31: 402-410.
- Fiske, C., Subarrow, Y. 1925. The colorimetric determination of phosphorus. Journal of Biological Chemistry. 66: 375-400.
- García, E.R.D.M, Murakami, A.E., Branco, A.F., Furlan, A.C., Moreira, I. 2000. Efeito da suplementação enzimática em rações com farelo de soja e soja integral extrusada sobre a digestibilidade de nutrientes, o fluxo de nutrientes na digesta ileal e o desempenho de frangos. Revista Brasileira de Zootecnia. 29: 1414-142.
- González, A. 2008. Efecto de la reformulación de una dieta con un complejo enzimático de fermentación en estado sólido sobre parámetros productivos y viscosidad intestinal en pollos de engorde. Trabajo de grado. Facultad de Agronomía, Universidad Central de Venezuela. Maracay. 16 pp.
- Hooge, D.M., Pierce, J.L., McBride, K.W., Rigolin, P.J. 2010. Meta-analysis of broiler chicken trials using diets with or without Allzyme® SSF enzyme complex. International Journal of Poultry Science. 9: 819-823.
- INIA. 2011. Reporte de Estación Climatológica. Unidad Agroclimatológica. Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas. Maracay, Venezuela.
- Lázaro, R., Latorre M.A., Medel, P., Gracia, M., Mateos, G.G. 2004. Feeding regimen and enzyme supplementation to rye-based diets for broilers. Poultry Science. 83: 152-160.
- Macari, M., Furlan, R.L., Gonzales, E. 2002. Fisiologia Aviária Aplicada a Frangos de Corte. Universidad Estadual Paulista. Jaboticabal, Brasil. 320-332 pp.
- Malathi, V., Devegowda, G. 2001. In vitro evaluation of nonstarch polysaccharide digestibility of feed ingredients by enzymes. Poultry Science. 80: 302-305.
- Mateos, G.G., Hermida, M., Pérez-Serrano, M., Lázaro, R.P. 2009. Evaluación de la calidad de las harinas de soja disponibles en el mercado europeo para la producción de piensos. In: Rebollar, P.Gª, de Blas C., Mateos, G.G. (Eds). XXV Curso de Especialización FEDNA. Fundación Española Para el Desarrollo de la nutrición Animal. Madrid, España. 153-176 pp.
- Meng, X., Slominski, B.A. 2005. Nutritive values of corn, soybean meal, canola meal, and peas for broiler chickens as affected by a multicarbohydase preparation of cell wall degrading enzymes. Poultry Science. 84: 1242-1251.
- Oliveira, C., Albino, L.F.T., Rostagno, H.S., Gomes, P.C., Dionizio, M.A., Oliveira, D.C. 2006. Adição de complexo multienzimático em dietas à base de soja extrusada e desempenho de pintos de corte. Revista Brasileira de Zootecnia. 35: 457-461.
- Ortíz, A. 2009. Implicaciones de la utilización de altos niveles de soja en avicultura. Proceedings of XLVI Symposium Científico de Avicultura. Asociación Española de Ciencia Avícola (AECA). Universidad de Zaragoza. España. 81-94 pp.
- Pérez, C. 2009. Efecto de la adición de complejos enzimáticos en dietas a base de sorgo sobre la integridad intestinal de pollos de engordes. Pasantía de Investigación. Facultad de Agronomía, Universidad Central de Venezuela. Maracay. 9-10 pp.
- Prophet, E.B., Mills, B., Arrington, L., Sobin, L.H. 1995. Hematoxilina y Eosina. In: Heffers C.S., Mullick, F.G. (Eds). Manual de Métodos Histotecnológicos. Instituto de Patología de las Fuerzas Armadas de los Estados Unidos de América. McGraw-Hill. Washington, DC. 250-268 pp.
- Ramesh, K.R., Devegowda, G. 2004. Effect of feeding varying levels of double zero rapeseed meal with and without enzyme supplementation on performance of broilers. Proceedings of 22nd World's Poultry Congress. Istanbul, Turkey. pp. 503.
- Rebole, A., Ortiz L.T., Rodríguez, M.L., Alzueta, C., Trevino, J., Velasco, S. 2010. Effects of inulin and enzyme complex, individually or in combination, on growth performance, intestinal microflora, cecal fermentation characteristics, and jejunal histomorphology in broiler chickens

- fed a wheat- and barley-based diet. Poultry Science. 89: 276-286.
- Rostagno, H.S., Teixeira, L.F., Donzele, J.L., Gomes, P.C., De Brito, R.F., Lopes, D.C., Ferreira, A.S., Toledo, S.L. 2005. Tablas Brasileiras para Aves y Cerdos. Composición de Alimentos y Requerimientos Nutricionales. 3ª Edición. Universidad Federal de Viçosa. Minas Gerais, Brasil. 186 pp.
- SAS. 1992. User's Guide Statistics. (ver. 6). Statistical Analysis System Institute Cary, NC, EUA. 636 pp.
- Schang, M.J., Azcona, J.O., Arias, J.E. 1997. Effects of a soya enzyme supplement on performance of broilers fed corn/soy or corn/soy/full-fat soy diets. Poultry Science. 76 (Supl. 1): 132 (Abstract).
- Siegel, S., Castellan, N.J. 1995. Estadística No Paramétrica Aplicada a las Ciencias de la Conducta. Ed. Trillas. México. 437 p.
- Slominski, B.A. 2011. Recent advances in research on enzymes for poultry diets. Poultry Science. 90: 2013-2023.
- Steel, R.G.D., Torrie, J.H. 1985. Bioestadística: Principios y Procedimientos. 2da Edic. Mc Graw-Hill. Bogotá. 622 p.
- Sung-Hee, H., Seog-Won, L., Chul, R. 2009. Effect of heat treatment of digestion-resistant fraction from soybean on retarding of bile acid transport *in vitro*. Nutrition Research and Practice. 3: 149-155.
- Wu, Y.B., Pierce, J., Hendricks, W.H., Ravindran, V. 2003. Comparison of in vitro nutrient release by three enzyme preparations in wheat- and maize-based diets. Proceedings of Australian Poultry Science Symposium. Adelaide, Australia. 114-118 pp.
- Zhang, Z., Marquardt, R.R., Guenter, W. 2000. Evaluating the efficacy of enzyme preparations and predicting the performance of leghorn chicks fed rye-based diets with a dietary viscosity assay. Poultry Science. 79: 1158-1167.

Submitted April 10, 2012– Accepted March 07, 2013
Revised received March 29, 2013