

## Efecto de una serina proteasa en dietas con niveles crecientes de sorgo sobre los parámetros productivos y utilización de nutrientes en pollos de engorde

### Effect of a serine protease on diets with increasing inclusion levels of sorghum over the performance and nutrient digestibility in broiler chickens

Jairo Gregorio Carvajal Jiménez, M.Sc.<sup>1,2</sup> y Edgar O. Oviedo, PhD<sup>3</sup>.

#### Resumen

El efecto de una serina proteasa PWD-1 en dietas de pollos Cobb-Avian con 4 niveles de inclusión de sorgo (0,10, 20 y 30%) fue evaluado en un diseño experimental completamente al azar con arreglo factorial de 4 x 2. 448 pollos machos de un día de edad se asignaron aleatoriamente a 32 corrales en grupos de 14 aves por corral y 4 corrales por tratamiento. Se registró el peso corporal individual y el consumo de alimento al día 21 y 42. Se colectó el contenido ileal al día 42 para determinación de Energía Digestible Ilean. El efecto de la enzima fue independiente del nivel de sorgo en la dieta ( $p < 0.05$ ). La inclusión de sorgo afectó negativamente la ganancia de peso corporal y la conversión alimenticia ( $p < 0.05$ ). La adición de proteasa PWD-1 mejoró ( $p < 0.05$ ) el desempeño productivo en todos los niveles de sorgo. Las aves suplementadas ganaron 270 g más y requirieron 115 g menos de alimento por kg de peso corporal al día 42. La EDI de las dietas de engorde mejoró ( $p < 0.001$ ) en 74 kcal/kg como consecuencia de la adición de la proteasa. Por lo tanto, el efecto negativo de la inclusión de sorgo puede ser mitigado con la adición de esta proteasa.

**Palabras clave:** Desempeño zootécnico, energía digestible ileal, enzimas, kafirina.

#### Abstract

The effect of adding a serine protease PWD-1 in broiler (Cobb-Avian) diets with 4 inclusion levels of sorghum (0, 10, 20 and 30%) was evaluated in a completely alleatorized experiment with 4x2 factorial design. 448 d-old Cobb-Avian broilers were randomly assigned to 32 floor pens in groups of 14 per pen and 4 pens per treatment combination. Individual BW and feed intake were recorded at 21 and 42 days of age. BWG, FCR and flock uniformity were calculated. Distal ileal contents were collected at 42d for IDE assessment. Independent effects ( $p < 0.05$ ) of sorghum level and enzyme supplementation were observed in all periods evaluated. BWG and FCR were negatively affected ( $p < 0.05$ ) as sorghum inclusion increased. Protease inclusion improved ( $p < 0.05$ ) performance at all sorghum inclusion levels and even in the control diets without sorghum. Broilers fed diets with protease were 270 g heavier and needed 115 g less of feed per kg of BW at 42d. The IDE of all diets improved ( $p < 0.001$ ) on 74 kcal due to protease addition. It was concluded that the detrimental effects of high tannin sorghum inclusion could be overcome by addition of PWD-1 protease.

**Keywords:** Broiler performance, ileal digestible energy, enzymes, kafirin.

<sup>1</sup>Maestría Ciencias Pecuarias, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad del Tolima, Ibagué, Colombia. <sup>2</sup>Novus International. <sup>3</sup>Departamento de Ciencias Avícolas, Universidad Estatal de Carolina del Norte, Estados Unidos

Recibido para publicación: Junio 04, 2014; Aceptado para publicación: Octubre 01, 2014.

Este trabajo fue financiado por el Departamento de Ciencias Avícolas, Universidad Estatal de Carolina del Norte, Estados Unidos

Cómo citar este artículo: Carvajal JG y Oviedo EO. Efecto de una serina proteasa en dietas con niveles crecientes de sorgo sobre los parámetros productivos y utilización de nutrientes en pollos de engorde. Revista Colombiana de Ciencia Animal 2014, 7: 43-55

Autor de correspondencia: Doctor Jairo Gregorio Carvajal. Novus International. Correo electrónico: jgcarvajal@ut.edu.co

Copyright © 2014 por Revista Colombiana de Ciencia Animal, Universidad del Tolima

La producción avícola enfrenta una compleja situación de costos de materias primas, sin que a futuro se vislumbre un giro favorable. El empleo de ingredientes alternativos o el reto

sobre los niveles de inclusión de los empleados tradicionalmente, se constituyen en herramientas para mitigar costos de producción y mantener competitividad, en un entorno cada vez más globalizado.

El sorgo es precisamente en la región, una alternativa a la dependencia de maíz importado. Este potencial ha sido reconocido desde tiempo atrás, pero características propias de los sorgos disponibles, que a la vez son los que resultan competitivos versus el maíz, limitan de manera considerable el

uso y aprovechamiento de este cereal, en dietas para pollo de engorde. Los niveles máximos de sorgo empleados en la formulación de dietas de pollo, consideradas de alto desempeño, no superan en promedio el 10% en el caso de alimentos, hasta los 21 días de edad y el 20% en el caso de alimentos ofrecidos desde el día 22 hasta el sacrificio.

Los sorgos nacionales y particularmente el sorgo que se ofrece desde Argentina, son la mayoría de las veces atractivos económicamente al compararlos con la oferta de maíz, pero al retar su inclusión en el campo a niveles de inclusión superiores a los previamente mencionados en dietas de pollo de engorde, se obtiene de manera consistente un desempeño zootécnico inferior, que resulta finalmente en un costo de producción de carne más alto, el cual no es compensado por el ahorro generado con su inclusión. A pesar de su equivalencia bromatológica con el maíz, la valoración nutricional del sorgo es inferior. Su menor aporte nutricional está dado en el caso de pollos de engorde por el denominado “triángulo de las bermudas”, conformado por taninos condensados, fitatos y kafirina.

El sorgo puede ser producido económicamente en climas relativamente secos y cálidos; con el calentamiento global y el descenso en el inventario de granos, se vuelve imperativo el total aprovechamiento del sorgo como recurso alimenticio para humanos y animales (Selle *et al.*, 2010). Este cereal es la quinta cosecha en el mundo con una producción mundial cercana a los 56 millones de toneladas métricas (Taylor *et al.*, 2006) y su composición varía significativamente debido a la genética, suelos e influencias ambientales (Rooney & Pflugfelder, 1986).

Una limitante reconocida del sorgo es su pobre calidad proteica, la cual ha sido atribuida a su baja solubilidad, deficiencia en AA esenciales como lisina y la interacción con taninos (Selle *et al.*, 2010). Un segundo factor limitante tiene que ver con que el sorgo, generalmente, tiene la menor digestibilidad de almidón entre los cereales, lo cual se atribuye a la capa de endospermo periférico resistente que encapsula los gránulos de almidón (Rooney & Pflugfelder, 1986). Como en el maíz, la proteína del endospermo del sorgo se encuentra de dos formas: una matriz y como cuerpos de proteína. La matriz envuelve los gránulos de almidón y los cuerpos de proteína (Taylor, 2005). Los cuerpos de proteína persisten en el grano maduro. La proteína del

sorgo es variable y aproximadamente 80, 16 y 3% de ella está presente en el endospermo, germen y pericarpio, respectivamente (Rooney & Pflugfelder, 1986); la principal fracción proteica en el sorgo es la prolamina, o más específicamente las kafirinas, seguidas por las glutelinas (Rooney & Pflugfelder, 1986). Las kafirinas se depositan primariamente en el endospermo durante el desarrollo del grano (Shewry *et al.*, 1995), formando cuerpos de proteína que rodean los gránulos de almidón y previenen el acceso de las amilasas durante la digestión (Chandrashekar & Kirleis, 1988). Por lo anterior buena parte de la calidad nutricional del sorgo depende de su concentración de kafirina.

Salinas *et al.*, (2006) encontraron que las concentraciones de kafirina fueron similares a las halladas por Oria *et al.* (1995) variando en un rango entre el 42.4 al 57.6% de la proteína total. Del mismo trabajo Salinas I. *et al.*, (2006), concluye que, en la medida en que el contenido de proteína cruda se incrementa, la proporción de kafirina respecto al total de proteína disminuye. Estas limitantes abren la posibilidad de emplear enzimas específicas que alteren la estructura de la kafirina, aumentando la digestibilidad de la proteína y haciendo más disponible el almidón contenido en la matriz proteica, con la consecuente mejora en términos de energía metabolizable.

Existe una “premisa” respecto a que un adecuado sustrato para una enzima exógena es aquel que sea pobremente digerido y que adicionalmente posea propiedades antinutritivas (Selle *et al.*, 2010) y la kafirina cumple con estas características. Taylor, (2005), consideró esta posibilidad de suplementación con enzimas exógenas, advirtiendo que la kafirina podría no ser rápidamente degradada debido a su pobre solubilidad y riqueza en puentes disulfuro. El potencial de la aplicación de keratinasas ha sido revisado, dado que intuitivamente una enzima con la capacidad de degradar keratina, la cual tiene una alta proporción de cistina y puentes disulfuro, podría degradar kafirina también. Una keratinasa derivada de *Bacillus licheniformis* ha mostrado resultados prometedores en dietas basadas en maíz-soya (Odetallah *et al.*, 2008). Estos estudios soportan la mejora en la digestibilidad del almidón del sorgo, en la degradación de la matriz de proteína que encapsula los gránulos de almidón, permitiendo así una mayor actividad hidrolítica enzimática del almidón.

La keratinasa PWD-1es una enzima originalmente

purificada a partir del *Bacillus licheniformis* PWD-1 (Williams *et al.*, 1990), con capacidad de hidrolizar una amplia gama de sustratos que incluyen caseína, colágeno, elastina y queratina. Se clasifica como una serina proteasa con un peso molecular de 33 kDa, un pH óptimo de 7.5 y una temperatura óptima de 50°C (Korniłowicz-Kowalska & Bohacz, 2011). Este trabajo evaluó el efecto de la adición de una serina proteasa PWD-1 en dietas con niveles crecientes de sorgo en reemplazo de maíz, ofrecidas a pollos de engorde machos al día 21 y 42 de edad atendiendo al desempeño zootécnico, Energía Digestible Ileal (EDI), porcentaje de rendimiento de pechuga y al retorno económico de la inversión por su aplicación.

## Materiales y Métodos

Este estudio se realizó en las instalaciones avícolas de la Granja de Armero CURDN, Centro Universitario Regional del Norte (Latitud 5° 00'07.48'', Longitud 74° 54'28.54'' >H. 286 m.), ubicada a 85 km sobre la vía Ibagué - Armero Guayabal y a cuatro km de Armero - Guayabal. Esta Granja se localiza a 1738 m.s.n.m., con una temperatura promedio anual de 27 °C y una humedad relativa anual del 71%.

Se utilizaron 448 pollos comerciales de la línea Cobb Avian, machos, de un día de edad provenientes de un mismo lote, asegurando condiciones similares de manejo y ambientales. Se alojaron 14 aves por corral, manejando 4 corrales por tratamiento experimental (4 réplicas).

Las aves fueron distribuidas de manera aleatoria en ocho tratamientos, como resultado de un diseño completamente al azar con arreglo factorial 4 x 2, con el nivel de inclusión de sorgo (0, 10, 20, 30%) (ver tabla 1 y 2) y la suplementación de serina-proteasa, considerando la matriz propuesta por el proveedor (0 o 500 g/TM para 300,000 U/g) como los factores principales. Los datos se analizaron en un diseño completamente al azar.

Las dietas fueron formuladas para llenar requerimientos nutricionales de uso comercial que excedían la recomendación del NRC (1988), considerando para la proteasa, la matriz nutricional propuesta por el proveedor. Las dietas con inclusión de proteasa reemplazaron los 500 g/TM de la enzima por 500 g/TM de Maíz (ver tabla 3 y 4).

Los alimentos ofrecidos fueron peletizados. Se adicionó Celite como marcador inorgánico, a las dietas de engorde al 0.8% de inclusión.

Los tratamientos experimentales utilizados fueron:

1. T1: Sin suplementación serina-proteasa y 0% Sorgo
2. T2: Suplementado con serina-proteasa y 0% de Sorgo.
3. T3: Sin suplementación serina-proteasa y 10% Sorgo
4. T4: Suplementado con serina-proteasa y 10% de Sorgo
5. T5: Sin suplementación serina-proteasa y 20% Sorgo.
6. T6: Suplementado con serina-proteasa y 20% de Sorgo
7. T7: Sin suplementación serina-proteasa y 30% Sorgo
8. T8: Suplementado con serina-proteasa y 30% de Sorgo





Betaina 96%	0.07	0.07	0.07	0.07	0.07	0.07	0.07	0.07
Monensina sódica 20%	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06
Premezcla vitamínica	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05
Proteasa	0.00	0.00	0.00	0.00	0.05	0.05	0.05	0.05
Bacitracina de Zinc 15%	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05
Cloruro de Colina 60%	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04
Endoxilanas	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
<b>Análisis de nutrientes (calculado)</b>								
EMA, kcal/kg	3206	3205	3205	3206	3204	3200	3204	3201
CP, %	18.32	18.29	18.16	18.13	19.57	19.54	19.41	19.38
Lis dig, %	0.94	0.93	0.94	0.93	1.01	1.00	1.00	1.00
Arg dig, %	1.07	1.07	1.05	1.04	1.16	1.15	1.13	1.13
Met dig, %	0.45	0.45	0.46	0.46	0.47	0.47	0.49	0.49
TSAA dig, %	0.68	0.68	0.69	0.68	0.73	0.73	0.74	0.73
Treo dig, %	0.57	0.57	0.57	0.57	0.62	0.62	0.62	0.62
Trip dig, %	0.18	0.18	0.18	0.19	0.20	0.20	0.20	0.21
Ileu dig, %	0.66	0.66	0.65	0.66	0.72	0.72	0.72	0.72
Val dig, %	0.70	0.70	0.69	0.69	0.77	0.77	0.76	0.76
Almidón, %	41.57	40.93	40.52	39.88	41.53	40.90	40.49	39.89
Ca, %	0.66	0.66	0.66	0.66	0.66	0.66	0.66	0.66
P disponible, %	0.32	0.32	0.32	0.32	0.32	0.32	0.32	0.32
Grasa, %	6.90	7.22	7.49	7.80	6.90	7.21	7.49	7.80
Fibra Cruda %	2.70	2.74	2.76	2.80	2.70	2.74	2.76	2.80

Los siguientes parámetros productivos fueron analizados al final del periodo de iniciación (día 21) y al final del experimento (día 42). Las aves no fueron sometidas a ningún estrés, relacionado con la toma de muestras y/o registro de parámetros.

- Consumo de alimento (g).
- Ganancia de peso corporal (g).
- Conversión alimenticia (Kg/Kg) ajustada por mortalidad.
- Porcentaje de mortalidad.
- Rendimiento de pechuga. Al día 42 de edad, previo registro del peso corporal, se sacrificaron 16 aves seleccionadas por tratamiento, mediante dislocación cervical, para luego ser desangradas de la yugular a nivel del paladar, pasando al escaldado (55-60°C), desplume y eviscerado manual. Una vez eviscerados se fraccionó y pesó la pechuga.

Adicionalmente se determinó la Energía Digestible Ileal al día 42 de edad, para lo cual se seleccionaron cuatro aves por cada réplica efectuando la colecta de contenido ileal. Para la determinación de la energía ileal digestible se seleccionaron cuatro

aves por cada réplica, las cuales se sacrificaron por dislocación cervical, siguiendo el método propuesto por Clifford (1984). Luego de que las aves fueron sacrificadas, se procedió a abrir la cavidad abdominal, removiendo por completo el intestino delgado. Posteriormente, el íleon, definido como el segmento entre el divertículo de Meckel y la unión ileocecal, fue disectado y la digesta de esta área colectada con una suave presión digital sobre este, para ser depositado en un contenedor plástico. El contenido ileal de cuatro aves por réplica conformará un pool, de manera que por cada tratamiento se contará con cuatro réplicas por tratamiento y este fue almacenado a -20 °C para su posterior análisis (Janmohammadi *et al.*, 2009). Las muestras fueron liofilizadas, para luego ser molidas a un tamaño de partícula de 0.75 mm Ø. La energía bruta del alimento y las muestras fue calculada mediante una bomba calorimétrica adiabática (Parr 6300, Parr Instrument Company, Moline, IL) y cada una de estas muestras fue analizada para ceniza insoluble (Celite) (AOAC, 1995; Método Ba 5b-68). El cálculo del valor de energía digestible ileal se realizó teniendo en cuenta la proporción relativa del Celite como marcador en la dieta y la digesta

El análisis económico se efectuó considerando el ahorro generado por el empleo de la proteasa con la matriz propuesta por el proveedor junto a la inclusión de sorgo, teniendo como punto de comparación inicial la dieta que contenía 100% de maíz más la adición de la proteasa PWD-1, teniendo en cuenta el costo del alimento, donde a medida que se iba aumentando la inclusión de sorgo, el costo por tonelada métrica iba disminuyendo, teniendo 13 USD/kg como precio de referencia para la proteasa PWD-1 en el momento del estudio.

Se determinó el costo por tonelada de alimento durante un ciclo productivo completo, calculando un diferencial por el costo de la adición de la proteasa y la disminución en el precio de la dieta por el menor costo del sorgo, al remplazar el maíz dentro de la matriz de formulación, para luego, a partir del ingreso de venta por kilogramo de pollo vivo, obtenido al día 42 de edad y el costo del alimento por pollo al final del ciclo, calculado mediante la conversión alimenticia de cada grupo experimental, establecer la utilidad bruta por pollo vivo, al final del ciclo productivo y el diferencial de utilidad, dada la adición de la proteasa en cada uno de los niveles de inclusión de sorgo.

Para determinar el efecto de los diferentes tratamientos experimentales sobre cada una de las variables evaluadas se utilizó un diseño completamente al azar con arreglo factorial (Steel y Torrie, 1992).

Se empleó ANOVA para analizar los datos usando el software JMP® 9 software (SAS institute Inc., 2010). Cuando los efectos fueron hallados con significancia se empleó el test de Tukey (Tukey, 1991) para sorgo y sorgo x inclusión de la proteasa y t- Student test para el efecto de adición de la proteasa. El valor de significancia estadística fue aceptado a  $P \leq 0.05$ .

## Resultados y discusión

### *Parámetros productivos*

Con relación al modelo estadístico empleado, se observaron diferencias ( $P < 0,05$ ) para los efectos principales (nivel de sorgo y adición de la proteasa PWD-1), sin ser significativa su interacción ( $P > 0,05$ ) en las variables evaluadas hasta el día 21 de edad como se muestra en la Tabla 5.

Con relación al nivel de inclusión de sorgo, el grupo experimental que recibió 30% de sorgo en la dieta mostró el menor valor de peso corporal ( $P < 0,0001$ ) comparado con los niveles de 0, 10 y 20% de inclusión (-59,3; -40,1 y -32,7 g, respectivamente), siendo la ganancia corporal mayor en 59.3 g, para el nivel de inclusión del 0% frente al de 30%.

En este experimento, el uso de la proteasa PWD-1 permitió el empleo de un sorgo medio en taninos (1,63% equivalente de catequina) y con un índice de kafirina de 5,2 a un nivel de inclusión de hasta un 20%, en remplazo del maíz, sin detrimento en parámetros zootécnicos. Es posible que el efecto de la adición de la proteasa PWD-1 sobre la kafirina facilite el aprovechamiento energético del sorgo, al mejorar el acceso al almidón contenido en los cuerpos de proteína. Con la hidrólisis de kafirina se facilita el rompimiento de la estructura de los cuerpos de proteína haciendo, no solo más digestible esta proteína de almacenamiento, sino exponiendo almidón a la acción endógena enzimática. El nivel de 30% de inclusión evidenció valores de desempeño zootécnicos menores comparados con aquellos en niveles de mas baja inclusión. Dicho comportamiento puede deberse a que el nivel de kafirina total en dieta que sobrepase la capacidad de hidrólisis de la proteasa PWD\_1, al menos para la dosis manejada en este trabajo de 500 g por tonelada métrica, para 300.000 U de actividad de proteasa por kilogramo.

Tabla 5. Parámetros productivos acumulados, observados al día 21 de edad en pollos de engorde alimentados con diferentes niveles de inclusión de sorgo y adición o no de proteasa en la dieta

Tratamiento		PC	GPC	Consumo	Conversión	Mortalidad
Nivel de Sorgo	Adición Proteasa	g	g	g	Kg/Kg	%
0		826 <sup>a</sup>	782 <sup>a</sup>	1040	1,34 <sup>b</sup>	1,80
10		807 <sup>a</sup>	763 <sup>a</sup>	1032	1,36 <sup>b</sup>	0,00
20		780 <sup>a</sup>	756 <sup>a</sup>	1041	1,38 <sup>b</sup>	0,00
30		767 <sup>b</sup>	723 <sup>b</sup>	1040	1,44 <sup>a</sup>	0,9
<b>EEM</b>		6,93	6,80	4,00	0,015	0,007
	0	773 <sup>b</sup>	729 <sup>b</sup>	1028 <sup>b</sup>	1,41 <sup>a</sup>	1,30
	500	827 <sup>a</sup>	783 <sup>a</sup>	<b>1048<sup>a</sup></b>	1,34 <sup>b</sup>	0,00
	<b>EEM</b>	4,90	4,81	2,83	0,011	0,005
0	0	805	760	1032	1,36	3,50
10	0	781	737	1023	1,39	0,00
20	0	761	717	1027	1,43	0,00
30	0	746	701	1031	1,47	1,80
0	500	848	803	1049	1,31	0,00
10	500	833	789	1041	1,32	0,00
20	500	838	795	1055	1,33	0,00
30	500	788	745	1049	1,41	0,00
<b>EEM</b>		9,80	9,61	5,65	0,021	0,009
<b>CV%</b>		2,45	2,54	1,09	3,07	0,60
<b>Efectos</b>						
Nivel		<,0001	<,0001	0,369	0,008	0,2222
Adición		<,0001	<,0001	<,0001	0,001	0,0612
Nivel*Adición		0,2574	0,2478	0,7159	0,6968	0,2222

PC, Peso corporal; GPC, Ganancia de peso corporal; Promedios con letras diferentes en la misma columna presentan diferencias significativas,  $p < 0.05$ . EEM: Error estándar de la media; CV%, coeficiente de variación.

El efecto negativo sobre la ganancia de peso al aumentar el nivel de inclusión de sorgo se ve reflejado directamente en la conversión alimenticia como se observa en la Tabla 5, donde los niveles de inclusión del 0, 10 y 20% fueron similares entre sí y diferentes al nivel de 30% (1,36, 1,34 y 1,38 vs 1,44,  $p = 0,001$ ), mostrando un consumo de alimento similar entre los diferentes grupos experimentales, como lo reportaron García *et al.* (2005) al incluir dos sorgos (alto y bajo en taninos), sin embargo, estos autores indicaron una mayor conversión alimenticia ( $p > 0,05$ ), frente a los animales suplementados con un sorgo bajo en taninos (1,58 vs 1,48, respectivamente), donde la dieta control (maíz) mostró un comportamiento intermedio, lo cual

contrasta con lo observado en este experimento, donde la dieta control con base en maíz junto a los niveles de 10 y 20% de inclusión de sorgo, mostraron la mejor conversión alimenticia, frente al nivel de inclusión de sorgo del 30% a los 21 días de edad.

Las aves que recibieron la adición de la proteasa PWD-1, mostraron un peso corporal y ganancia de peso mayores ( $p < 0,0001$ ) (53.5 y 54.3 g, respectivamente) frente al grupo sin adición, observando un consumo acumulado de alimento mayor en 20,23 g, para las aves que recibieron la adición de la proteasa PWD-1. Así mismo, la conversión de alimento al día 21 de edad con la adición de la proteasa, mostró una menor conversión (1,34) frente a la no adición (1,41) ( $p = 0,0002$ ) (Tabla 5).

Estos resultados contrastan con lo reportado por Yan *et al.* (2012), quienes no observaron efectos significativos sobre el peso corporal al día 21 de



edad por la adición de una proteasa y una fitasa en dietas con base en sorgo alto en taninos, donde la conversión alimenticia mejoró de manera significativa. De otro lado, Stark *et al.*, (2009) reportaron que la adición de una proteasa en dietas bajas en proteína, resultó en una mayor ganancia de peso corporal y una mejor conversión alimenticia ( $p < 0,01$ ), sin que el consumo de alimento fuera afectado por la inclusión de la enzima o la forma de la dieta. Resultados similares fueron reportados por Odetallah *et al.* (2003) en dietas tipo maíz-soya con un bajo nivel de proteína, cuando la adición de la proteasa PWD-1 mostró un mayor peso corporal frente al control sin suplementar al día 26 de edad.

En la Tabla 6 se observan los valores para las variables productivas del día 22 al 42 de edad. Se observaron diferencias ( $p < 0,05$ ) para los efectos principales (nivel de sorgo y adición de la proteasa

PWD-1), sin ser significativa su interacción ( $p > 0,05$ ) en las variables evaluadas hasta el día 42 de edad.

Con relación al nivel de inclusión de sorgo al día 42 de edad no se observaron diferencias ( $p > 0,05$ ) para las variables peso corporal y ganancia de peso, de manera similar a lo reportado por García *et al.* (2005) al evaluar dos sorgos (alto y bajo en taninos). Sin embargo, el nivel de inclusión del 20% evidenció un mayor consumo acumulado frente al nivel del 10%, donde los niveles de 0 y 30% mostraron un comportamiento intermedio. Con relación a la conversión alimenticia, el nivel de inclusión del 30% mostró el mayor valor frente a los niveles de 0 y 10%, donde la inclusión del 20% se comportó de manera intermedia, resultados que difieren para estas dos variables con lo reportado por García *et al.* (2005).

Tabla 6. Parámetros productivos observados al día 42 de edad en pollos de engorde alimentados con diferentes niveles de inclusión de sorgo y adición o no de proteasa en la dieta

Tratamiento		PC	GPC	Consumo	Conversión	Mortalidad
Nivel de Sorgo	Adición Proteasa	g	g	Kg/Kg	%	%
0		2543	2498	4268 <sup>ab</sup>	1,71 <sup>b</sup>	3,50
10		2521	2477	4243 <sup>b</sup>	1,72 <sup>b</sup>	1,80
20		2518	2475	4356 <sup>a</sup>	1,78 <sup>ab</sup>	2,60
30		2381	2338	4313 <sup>ab</sup>	1,84 <sup>a</sup>	1,80
<b>EEM</b>		44,78	44,93	24,07	0,028	0,3
	0	2363 <sup>b</sup>	2318 <sup>b</sup>	4203 <sup>b</sup>	1,82 <sup>a</sup>	1,80
	500	2619 <sup>a</sup>	2576 <sup>a</sup>	4387 <sup>a</sup>	1,71 <sup>b</sup>	3,10
	<b>EEM</b>	31,66	31,77	17,02	0,020	0,2
0	0	2428	2383	4159	1,75	3,50
10	0	2407	2362	4152	1,77	1,80
20	0	2372	2328	4264	1,84	0,00
30	0	2244	2200	4236	1,93	1,80
0	500	2658	2614	4376	1,68	3,50
10	500	2636	2592	4336	1,68	1,80
20	500	2665	2622	4432	1,70	5,30
30	500	2518	2475	4403	1,78	1,80
<b>EEM</b>		63,33	63,54	34,05	0,040	0,012
<b>CV%</b>		5,09	5,19	1,59	4,58	60,0
<b>Efectos</b>						
Adición		<,0001	<,0001	<,0001	0,0010	0,4556
Nivel		0,0665	0,0690	0,0217	0,0082	0,8719
Adición*Nivel		0,9414	0,9422	0,8661	0,6968	0,6368

PC, Peso corporal; GPC, Ganancia de peso corporal; Promedios con letras diferentes en sentido horizontal presentan diferencias significativas,  $p < 0.05$ . EEM: Error estándar de la media; CV%, coeficiente de variación.

Con relación a la adición de la proteasa PWD-1, al día 42 de edad, el grupo que recibió la adición de la proteasa alcanzó un mayor peso corporal ( $p < 0,0001$ ; 2619 g) y consumo de alimento acumulado ( $p < 0,0001$ ; 4387 g) frente a la no adición de la proteasa (2363 g y 4203 g, respectivamente) mostrando una ganancia en el peso corporal a los 42 días de 257 g. Estos resultados se vieron reflejados en una menor conversión alimenticia comparado con la no inclusión de la proteasa PWD-1 en la dieta (1,71 vs 1,82,  $p = 0,0010$ ) (Tabla 6).

Para el % de mortalidad acumulado hasta el día 42 de edad, no se observaron diferencias estadísticas entre la adición o no de la proteasa PWD-1. Con referencia a la inclusión de sorgo lo que concuerda con García *et al.* (2005).

### Valores de energía digestible ileal

En la Tabla 7 se pueden observar los valores obtenidos para la EDI. La adición de proteasa mejoró el valor de EDI de las dietas con y sin inclusión de sorgo (3,249 vs 3,175 kcal/kg,  $p = 0,001$ ; Figura 5-9). No se observó un efecto del nivel de inclusión del sorgo sobre el valor de EDI.

Tabla 7. Valores de EDI observados al día 42 de edad en pollos de engorde alimentados con diferentes niveles de inclusión de sorgo y adición o no de proteasa en la dieta.

Tratamiento		EDI
Nivel Sorgo	Adición Proteasa	Kcal/kg
0		3,232±20
10		3,239±20
20		3,192±18
30		3,184±20
	0	3,175±14 <sup>b</sup>
	500	3,249±14 <sup>a</sup>
0	0	3,180±0,04
10	0	3,178±0,03
20	0	3,144±0,04
30	0	3,198±0,03
0	500	3,282±0,04

Tratamiento		EDI
Nivel Sorgo	Adición Proteasa	Kcal/kg
10	500	3,301±0,04
20	500	3,240±0,04
30	500	3,170±0,04
CV%		1,61
<b>Efectos</b>		
Adición		0,001
Nivel		0,140
Adición*Nivel		0,051

EDI, Energía digestible Ileal; Promedios ± Error estándar con letras diferentes en sentido horizontal presentan diferencias significativas,  $p < 0.05$ . EEM: Error estándar de la media; CV%, coeficiente de variación.

La inclusión de la proteasa ( $p < 0,05$ ) afectó el desempeño en todos los niveles de inclusión de sorgo, así como en el control con maíz durante cada periodo evaluado. Los pollos que consumieron dietas con inclusión de proteasa fueron 257g más pesados (2619 vs 2363 g) y requirieron 184 g, menos de alimento por kg de peso corporal, mostrando una mejor conversión alimenticia (1,71 vs 1,82) al día 42 de edad. La EDI de las dietas mejoró ( $p < 0,05$ ) en 74 Kcal/kg, debido a la adición de la proteasa.

El almidón del sorgo está presente en el endospermo del grano estrechamente empaquetado, en forma de gránulos poligonales embebidos por los cuerpos proteicos esféricos y la matriz de proteína que disminuyen su digestibilidad, donde la hidrólisis de la proteína del grano de sorgo expone los gránulos de almidón para su asimilación (Sultán *et al.*, 2011). Los anteriores resultados llaman la atención sobre la posibilidad de como la kafirina/gluteína pueden impedir la digestibilidad del almidón con la implicación de que la mala calidad de la proteína deprime la utilización de la energía del sorgo (Wong *et al.*, 2009).

### Rendimiento de pechuga y análisis económico

En la Tabla 8 se puede observar el porcentaje de rendimiento de pechuga para cada uno de los tratamientos experimentales.

Tabla 9. Valores de rendimiento de pechuga observados al día 42 de edad, en pollos de engorde alimentados con diferentes niveles de inclusión de sorgo y adición o no de proteasa en la dieta

Tratamiento		R. Pechuga
Nivel Sorgo	Adición Proteasa	%
	0	20,6
	500	20,4
<b>EEM</b>		0,34
0		20,1
10		21,2
20		20,8
30		20,0
<b>EEM</b>		0,49
0	0	19,9
10	0	21,1
20	0	21,0
30	0	20,7
0	500	20,4
10	500	21,3
20	500	20,6
30	500	19,4
<b>EEM</b>		0,69
<b>CV%</b>		6,71
<b>Efectos</b>		
Adición		0,6392
Nivel		0,3069
Adición*Nivel		0,5556

R. Pechuga, Rendimiento pechuga; Promedios con letras diferentes en sentido horizontal presentan diferencias significativas,  $P < 0.05$ . EEM: Error estándar de la media; CV%, coeficiente de variación.

La adición de la proteasa PWD-1 o los diferentes niveles de inclusión de sorgo dentro de las dietas no afectaron de manera significativa esta variable.

El análisis económico se desarrolló calculando para cada tratamiento el costo de alimentación por pollo producido. Para esto se ponderó el impacto económico de la dieta de iniciación y de engorde. Para la fecha de fabricación del alimento, Octubre del 2011, el costo de las principales materias primas empleadas, USD /Tonelada, fue de: Maíz argentino, \$380; Torta de Soya Argentina (46% proteína cruda), \$442; Frijol Soya Argentino extruido, \$641; Sorgo Argentino, \$315. Vale la pena anotar que los efectos positivos de la proteasa PWD-1 se reflejan incluso en dietas sin sorgo, lo que económicamente se traduce en menor costo de producción por kg de pollo.

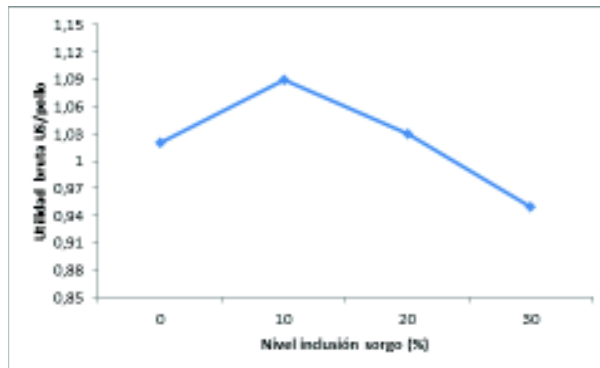
En la Tabla 9 se observa la mayor utilidad por pollo a los 42 días para un nivel de inclusión de 10% de sorgo con la adición de la proteasa, estableciendo un comportamiento de tipo cuadrático entre los diferentes niveles. La máxima utilidad bruta calculada se da a un nivel del 10% de sorgo en la dieta, siendo esta de USD\$ 1.09/pollo ( $r=0.968$ ). La utilidad bruta disminuye en USD\$ 0,14 entre los niveles de 10 al 30% (Figura 1).

Tabla 10. Análisis económico de la adición o no de proteasa en dietas suplementadas con diferentes niveles de sorgo, en un ciclo completo de producción de pollo de engorde (42 días)

Nivel sorgo	Adición proteasa	Costo USD\$/TM Alimento	Diferencial Costo USD\$/TM vs 0:0	Valor USD\$ Pollo Vivo obtenido	CA	Consumo Alimento (g/ave)	USD\$ Costo alimento/ Pollo	Utilidad Bruta USD/ Pollo	Diferencia Utilidad USD\$ vs 0:0
0	0	539	0.0	3,40	1,69	4482	2,41	0,99	0,00
0	500	533	-6.0	3,40	1,69	4482	2,39	1,02	0,03
10	500	530	-9.0	3,42	1,66	4407	2,34	1,09	0,10
20	500	528	-11.0	3,44	1,71	4560	2,41	1,03	0,04
30	500	526	-13.0	3,29	1,74	4452	2,34	0,95	-0,04

Costo \$ (dólares USA); CA, Conversión alimenticia

$$Y=1,0255 + 0,0085*X - 0,000375*X^2; r=0,968 S=0,024$$



**Figura 1.** Utilidad bruta obtenida al incrementar el nivel de inclusión de sorgo en la dieta.

## Conclusiones

La adición de una proteasa en la dieta de pollos Broiler tiene efectos positivos en términos del peso corporal y la conversión alimenticia, resultando en animales más pesados al final del ciclo productivo, ayudando a superar los efectos negativos observados al incluir sorgos en dietas para pollos de engorde. La adición de la proteasa PWD-1 mejoró el valor de EMA de pollos de engorde alimentados con dietas suplementadas con y sin sorgo. La inclusión de niveles crecientes de sorgo en la dieta a expensas del maíz, de acuerdo con los resultados de este experimento se puede dar en términos económicos hasta un 10% y entre un 10 a 20% en términos de parámetros productivos. La inclusión de sorgo hasta un 30% en la dieta para pollos de engorde no afectó de manera significativa el porcentaje de rendimiento de pechuga bajo las condiciones de este experimento. Los efectos perjudiciales de la inclusión de sorgo en dietas para pollos de engorde (1,63% de catequina equivalente) pueden ser mitigados con la adición de la proteasa PWD-1.

## Recomendaciones

Se recomienda la determinación del coeficiente de digestibilidad del almidón, así como la caracterización del contenido de kafirina el sorgo en estudio. En este caso, el efecto hallado para la proteasa fue en presencia de fitasa y xilanasas. Dada la evidencia reciente en relación con las posibilidades de uso y beneficios de una beta-mananasa en dietas maíz/sorgo/soya, se recomienda evaluar el efecto de la proteasa PWD-1 en combinación con este tipo de actividad enzimática. Adicionalmente, dado que

la granulometría de molienda del sorgo impacta su aprovechamiento nutricional en pollo de engorde, se recomienda evaluar el efecto de proteasa PWD-1 con sorgo, a diferentes tamaños de partícula.

## Referencias

- Bedford, M. R., & Schulze, H. (1998). Exogenous enzymes for pigs and poultry. *Nutr Res Rev* 11:91-114.
- Belton, P., Delgadillo, I., Halford, N., & Shewry, P. (2006). Kafirina structure and functionality. *Journal of Cereal Science*, 44(3), 272-286. doi: 10.1016/j.jcs.2006.05.004.
- Bryden, W. L., Selle, P. H., Cadogan, D. J., Li, X., Muller, N. D., Jordan, D. R., Gidley, M. J., & Hamilton, W. D. (2009). A Review of the nutritive value of sorghum for broilers, Publication No. 09/077. Rural Industries Research and Development Corporation (RIRDC), Canberra, Australia.
- Cadogan, D. J., & Selle, P. H. (2000). Phytase and xylanase supplementation of wheat based diet for pigs Asian-Australasian *Journal of Animal Science* 13: Supplement Vol A: 220.
- Chang S. I., & Fuller, H. L. (1964) Effect of tannin content of grain sorghums on their feeding value for growing chicks. *Poultry Science* 43:30-36.
- Cowieson, A.J., Bedford, M.R., Selle, P.H., & Ravindran, V. (2009). Phytate and microbial phytase: implications for endogenous nitrogen losses and nutrient availability. *World's Poult. Sci. J.* 65:401-417.
- Duodu, K.G., Taylor, J. R. N., Belton, P. S., & Hamaker, B.R. (2003). Factors affecting sorghum protein digestibility. *Journal of Cereal Science* 38, 117-131.
- Ebadi, M. R., Sedghi, M., Golian, A., & Ahmadi, H. (2011). Prediction of the true digestible amino acid contents from the chemical composition of sorghum grain for poultry. *Poultry science* 90:2397-2401.
- Garcia, R.G., Mendes, A.A., Almeida Paz, I.C.L., Komiyama, C. M. Caldara, F. R., Nääs, I. A., Mariano, W. S. (2013). Implications of the Use of Sorghum in Broiler Production. *Brazilian Journal of Poultry Science*. v.15; n.3, pp. 169-286
- Liu, S., Selle, S., Cowieson, C., & Cowieson, A. (2013). Protease supplementation enhances apparent digestibility of amino acids at four small intestinal sites in broiler chickens offered sorghum-based diets. *24th Annual Australian Poultry Science Symposium* (pp. 41-44). Sidney.
- Mosse, J., Huet, J., & Baudet, J. (1988). The Amino Acid Composition of Whole Sorghum Grain in Relation to Its Nitrogen Content. *Cereal Chemistry*, 65(4), 271-277.
- Nyachoti, C. M., Atkinson, J. L. & Leeson, S. (1996). Response of broiler chicks fed a high-tannin sorghum diet. *J. Appl. Poult. Res.* 5:239-245.
- Odetallah, N. H., Wang, J. J., Garlich, J. D., & Shih, J. C. H. (2003). Keratinase in Starter Diets Improves Growth of Broiler Chicks. *Poultry Science* 82:664-670
- Perez-Maldonado, R. A., & Rodrigues, H. D. (2007). Nutritional characteristics of sorghums from Queensland and New

- South Wales for chicken meat production. Barton, A.C.T., Australia: RIRDC Publication No. 09/170.
- Ravindran, V., Selle, P. H., & Bryden, W. L. (1999). Effects of phytase supplementation, individually and in combination with glycanase, on the nutritive value of wheat and barley. *Poultry Sci* 78:1588-1595.
- Rooney, L. W., & Pflugfelder, R. L. (1986). Factors affecting starch digestibility with special emphasis on sorghum and corn. *J. Anim. Sci.* 63:1607-1623.
- Salinas, I., Pro, a, Salinas, Y., Sosa, E., Becerril, C., Cuca, M., et al. (2006). Compositional variation amongst sorghum hybrids: Effect of kafirin concentration on metabolizable energy. *Journal of Cereal Science*, 44(3), 342-346. doi: 10.1016/j.jcs.2006.08.008.
- Selle, P. H., & Ravindran, V. (2007) Microbial phytase in poultry nutrition. *Animal Feed Science and Technology* 135: 1-41.
- Taylor, J., Bean, S. R., Ioerger, B. P., & Taylor, J. R. N. (2007). Preferential binding of sorghum tannins with  $\alpha$ -kafirin and the influence of binding on kafirin digestion and biodegradation. *J. Cereal Sci.* 46, 22-31.
- Wang, H., Guo, Y., & Shih, J. (2008). Effects of dietary supplementation of keratinase on growth performance, nitrogen retention and intestinal morphology of broiler chickens fed diets with soybean and cottonseed meals. *Animal Feed Science and Technology*. 140(3-4), 376-384. doi: 10.1016/j.anifeedsci.2007.04.003.
- Yan, F., Mutayoba, S., Dierenfeld, E., & Vazquez-Anon, M. (2012). Improving nutritive value of high tannin sorghum for broiler chicks using exogenous protease and phytase. *Poult. Sci.* 91(Suppl. 1):117.
- Zhang, G., & Hamaker, R.B. (1998). Low  $\alpha$ -amylase starch digestibility of cooked sorghum flours and the effect of protein. *Cereal Chemistry* 75:710-713.