

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA
MOLINA**

FACULTAD DE ZOOTECNIA



**“EFECTO DE UN COMPLEJO ENZIMÁTICO EN PARÁMETROS
PRODUCTIVOS Y MORFOMETRÍA INTESTINAL DE POLLOS
DE ENGORDE DE 1 – 28 DÍAS”**

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE INGENIERO
ZOOTECNISTA**

KARYN MELISSA CÓRDOVA PALACIOS

LIMA-PERÚ

2022

**La UNALM es titular de los derechos patrimoniales de la presente investigación
(Art. 24 – Reglamento de Propiedad Intelectual)**

Document Information

| | |
|-------------------|---|
| Analyzed document | TESIS + ACTA DE SUSTENTACIÓN.pdf (D157377130) |
| Submitted | 1/30/2023 4:37:00 PM |
| Submitted by | NICEAS CARLOS VILCHEZ PERALES |
| Submitter email | cvilchezp@lamolina.edu.pe |
| Similarity | 5% |
| Analysis address | cvilchezp.unalm@analysis.arkund.com |

Sources included in the report

| | | |
|----|--|---|
| W | URL: https://repositorio.untrm.edu.pe/bitstream/handle/20.500.14077/1651/Ordo%C3%B1ez%20Rumiche%20E... Fetched: 1/30/2023 4:39:00 PM |  6 |
| W | URL: https://seleccionesavicolas.com/pdf-files/2012/11/6995-accion-de-una-xilanas-a-producida-por-ba... Fetched: 1/30/2023 4:40:00 PM |  2 |
| W | URL: https://www.redalyc.org/pdf/423/42333101.pdf Fetched: 1/30/2023 4:38:00 PM |  1 |
| SA | Universidad Nacional Agraria La Molina / Tesis Jenny Sandoval.doc Document Tesis Jenny Sandoval.doc (D142830822) Submitted by: mcumpa@lamolina.edu.pe Receiver: mcumpa.unalm@analysis.arkund.com |  2 |
| SA | N2 Quizphi-Suplementación de fitasas en pollos de engorde a diferentes dosis y su efecto sobre la productividad y mitigación medio ambiental.docx Document N2 Quizphi-Suplementación de fitasas en pollos de engorde a diferentes dosis y su efecto sobre la productividad y mitigación medio ambiental.docx (D69741553) |  1 |
| SA | Cevallos - Fitasas en gallinas de postura.docx Document Cevallos - Fitasas en gallinas de postura.docx (D155845002) |  1 |
| W | URL: http://scielo.sld.cu/pdf/cjas/v53n4/2079-3480-cjas-53-04-341.pdf Fetched: 1/30/2023 4:40:00 PM |  2 |
| SA | LisethAngelicaAbarcaAlulema.pdf Document LisethAngelicaAbarcaAlulema.pdf (D111721411) |  4 |
| W | URL: https://ciencia.lasalle.edu.co/cgi/viewcontent.cgi?article=1150&context=zootecnia Fetched: 1/30/2023 4:39:00 PM |  1 |
| SA | Aditivos Enzimaticos.pdf Document Aditivos Enzimaticos.pdf (D108920081) |  1 |
| W | URL: http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=30235406 Fetched: 1/30/2023 4:39:00 PM |  1 |
| W | URL: http://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/1660 Fetched: 1/30/2023 4:39:00 PM |  1 |

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA
MOLINA**

FACULTAD DE ZOOTECNIA

**“EFECTO DE UN COMPLEJO ENZIMÁTICO EN PARÁMETROS
PRODUCTIVOS Y MORFOMETRÍA INTESTINAL DE POLLOS
DE ENGORDE DE 1 – 28 DÍAS”**

Presentada por:

KARYN MELISSA CÓRDOVA PALACIOS

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE INGENIERO ZOOTECNISTA

Sustentada y aprobada ante el siguiente jurado:

Ph. D. Víctor Guevara Carrasco

PRESIDENTE

Dra. María Elena Villanueva Espinoza

MIEMBRO

Mg. Sc. Víctor Vergara Rubín

MIEMBRO

Ph. D. Carlos Vílchez Perales

ASESOR

DEDICATORIA

A todos los profesionales y estudiantes que se dedican a las ciencias animales.
Especialmente a las mujeres, quienes cada vez ocupan un lugar más relevante en este
rubro.

AGRADECIMIENTOS

Al Ph. D. Carlos Vilchez Perales por su guía y apoyo durante la realización de este proyecto.

A mi familia por acompañarme en cada momento importante de mi vida y brindarme las oportunidades que me han llevado hasta donde estoy ahora.

A todos los profesionales y compañeros de universidad que me brindaron su valiosa ayuda en la parte experimental de esta tesis.

A mis amigos que estuvieron para brindarme sus consejos y compañía durante esta etapa.

A la Universidad Nacional Agraria La Molina, donde pasé algunos de mis mejores años como estudiante y en cuyas instalaciones se realizó esta tesis.

A los docentes de la Facultad de Zootecnia por compartir su conocimiento y sentar las bases para ser la profesional en la que me estoy convirtiendo.

ÍNDICE GENERAL

| | Página |
|---|-----------|
| RESUMEN | |
| ABSTRACT | |
| I. INTRODUCCIÓN | 1 |
| II. REVISIÓN DE LITERATURA | 3 |
| 2.1. Enzimas | 3 |
| 2.2. Enzimas en la industria | 4 |
| 2.2.1. Aplicación en alimentación animal..... | 5 |
| 2.3. Complejo enzimático | 6 |
| 2.3.1. Xilanasa | 7 |
| 2.3.2. Amilasa | 8 |
| 2.3.3. Proteasa | 10 |
| 2.4. Factores que influyen en la actividad de enzimas exógenas..... | 12 |
| 2.4.1. Composición de los ingredientes..... | 12 |
| 2.4.2. Condiciones del tracto digestivo..... | 14 |
| 2.4.3. Proceso de producción del alimento..... | 15 |
| 2.5. Histología de la vellosidad intestinal..... | 15 |
| 2.6. Antecedentes en el uso de complejo enzimático | 16 |
| 3. METODOLOGÍA | 20 |
| 3.1. Lugar de ejecución y tiempo de duración | 20 |

| | |
|---|-----------|
| 3.2. Animales experimentales | 20 |
| 3.3. Instalaciones y equipos | 20 |
| 3.4. Producto evaluado | 20 |
| 3.4.1. Complejo enzimático | 20 |
| 3.5. Tratamientos | 21 |
| 3.6. Programa de alimentación | 21 |
| 3.7. Mediciones | 24 |
| 3.7.1. Peso vivo | 24 |
| 3.7.2. Ganancia de peso | 24 |
| 3.7.3. Consumo de alimento | 24 |
| 3.7.4. Conversión alimenticia | 24 |
| 3.7.5. Rendimiento de carcasa | 24 |
| 3.7.6. Parámetros de pechuga | 24 |
| 3.7.7. Morfometría intestinal | 25 |
| 3.7.8. Retribución económica | 26 |
| 3.8. Análisis estadísticos | 26 |
| 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN | 27 |
| 4.1. Peso vivo y ganancia de peso | 27 |
| 4.2. Consumo de alimento | 28 |
| 4.3. Conversión alimenticia | 29 |
| 4.4. Parámetros de pechuga | 30 |
| 4.5. Morfometría intestinal | 31 |
| 4.6. Retribución económica..... | 32 |
| 5. CONCLUSIONES | 34 |

| | |
|--|-----------|
| 6. RECOMENDACIONES | 35 |
| 7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 36 |
| 8. ANEXOS | 43 |

ÍNDICE DE CUADROS

| | Página |
|--|--------|
| 1. Efecto de la suplementación de enzimas en dietas de pollos de engorde sobre diversos parámetros..... | 17 |
| 2. Composición de los tratamientos a evaluar..... | 21 |
| 3. Composición y valor nutricional calculado de las dietas por tratamiento en la fase de inicio (1 – 14 días)..... | 22 |
| 4. Composición y valor nutricional calculado de las dietas por tratamiento en la fase de crecimiento (15-28 días)..... | 23 |
| 5. Efecto de los tratamientos sobre los parámetros productivos..... | 28 |
| 6. Efecto de los tratamientos sobre el rendimiento de carcasa y los parámetros de pechuga..... | 30 |
| 7. Efecto de los tratamientos sobre la morfometría intestinal..... | 31 |
| 8. Retribución económica de los tratamientos a los 28 días..... | 33 |

ÍNDICE DE ANEXOS

| | Página |
|---|--------|
| 1. Costo (S/ x Kg) de los ingredientes utilizados en la evaluación para octubre del 2019..... | 43 |
| 2. Registro de peso vivo (g) por semana para cada tratamiento con sus respectivas repeticiones..... | 44 |
| 3. Registro de ganancia de peso acumulada (g) por semana para cada tratamiento con sus respectivas repeticiones..... | 45 |
| 4. Registro de consumo acumulado (g) por semana para cada tratamiento con sus respectivas repeticiones..... | 46 |
| 5. Registro de conversión alimenticia acumulada por semana para cada tratamiento con sus respectivas repeticiones..... | 47 |
| 6. Registro de rendimiento de carcasa y parámetros de pechuga para cada tratamiento con sus respectivas repeticiones..... | 48 |
| 7. Registro de morfometría intestinal para cada tratamiento con sus respectivas repeticiones..... | 49 |

RESUMEN

El presente trabajo de investigación se realizó en las instalaciones del Laboratorio de Investigación en Nutrición y Alimentación de Aves (LINAA) de la Universidad Nacional Agraria la Molina. El objetivo fue evaluar el efecto de la adición de un complejo enzimático (xilanasas, amilasa y proteasa) sobre los parámetros productivos, los parámetros de carcasa y la morfometría intestinal. Se utilizaron 75 pollos machos de la línea Cobb 500 distribuidos al azar en tres tratamientos con cinco repeticiones y cinco aves por repetición, alojados en jaulas galvanizadas con calefacción. Los tratamientos fueron los siguientes: tratamiento control (T1), tratamiento control negativo con reducción de 100 Kcal/kg de alimento y 3 % de proteína y aminoácidos (T2) y tratamiento control negativo con inclusión del complejo enzimático (T3). Se suministró agua y alimento ad libitum. A su vez, se registró el peso vivo, la ganancia de peso, el consumo de alimento y la conversión alimenticia. Al finalizar la evaluación de 28 días se registró el peso de las carcasas y se tomaron muestras de intestinos para determinar el rendimiento de carcasa, el rendimiento de pechuga y la morfometría intestinal. En la etapa de inicio, se mostró diferencia significativa ($P < 0.05$) en la conversión alimenticia a favor del T1, sin embargo, no hubo diferencia ($P > 0.05$) entre T2 y T3. En cuanto al peso vivo y la ganancia de peso en la etapa inicial, no se mostró diferencia significativa ($P > 0.05$) entre el T2 y el T3, no obstante, hubo una diferencia significativa ($P < 0.05$) entre el T1 y T3, probablemente debido a la reducción de nutrientes y a la tendencia a la reducción de consumo al incluir el complejo enzimático. En la etapa de crecimiento y la etapa total no se mostró diferencia significativa ($P > 0.05$) entre los tres tratamientos en cuanto a los parámetros de peso vivo, ganancia de peso, consumo de alimento, conversión alimenticia, rendimiento de carcasa, rendimiento de pechuga ni morfometría intestinal. Al final del experimento, el tratamiento con xilanasas, amilasa y proteasa obtuvo un retorno económico por pollo mayor en 0.69% respecto al control.

Palabras clave: enzimas, xilanasas, amilasa, proteasa, pollos de engorde, morfometría intestinal

ABSTRACT

This research was conducted in the facilities of the Poultry Nutrition and Feed Research Laboratory at “Universidad Nacional Agraria La Molina”. The objective of this research was to evaluate the effect of exogenous xylanase, amylase and protease on performance, carcass parameters and intestinal morphometry. 75 Cobb 500 male broilers housed in galvanized cages with heaters were randomly distributed into three treatments divided in five replicates with five birds each one. The treatments were the following: control treatment (T1), negative control treatment deficient in 100 Kcal/kg of feed and 3 % of protein and amino acids (T2) and negative control with addition of the enzymes (T3). Water and feed were supplied ad libitum. Body weight, weight gain, feed intake and feed conversion ratio were registered. At the end of the 28 days experiment, carcass weight and intestinal samples were taken in order to determine carcass yield, breast yield and intestinal morphometry. Animals fed with the starter diets showed significant difference ($P < 0.05$) related to feed conversion ratio in favor of T1, nevertheless, there was not significant difference ($P > 0.05$) between T2 and T3. As to body weight and weight gain during initial stage, there was not significant difference ($P > 0.05$) between T2 and T3, nonetheless, there was significant difference between T1 and T3, probably due to nutrient reduction and feed intake reduction tendency when enzymatic complex was added. During growing stage and total stage, there was no significant difference ($P > 0.05$) among the treatments regarding to body weight, weight gain, feed intake, feed conversion ratio, carcass yield, breast yield or intestinal morphometry. At the end of the experiment, the xylanase, amylase and protease treatment obtained a better economic return per bird in 0.69% regarding to the control.

Key words: enzymes, xylanase, amylase, protease, broiler, intestinal morphometry

I. INTRODUCCIÓN

A nivel mundial la demanda de alimentos es cada vez mayor, ante esto, la producción de pollos de carne resulta una interesante alternativa para cubrir la demanda de proteína animal, esto debido a su bajo nivel de conversión alimenticia y su gran velocidad para salir al mercado en comparación a otras especies.

Debido a esto y a las alzas constantes del costo de los insumos, surge la necesidad de optimizar cada vez más el proceso productivo, especialmente en cuanto a la alimentación, la cual representa aproximadamente el 70% del costo total de producción. Por esta razón, es necesario evaluar estrategias como lo son el uso de aditivos que favorezcan una mejor absorción de nutrientes y salud intestinal.

Ante esto, entre los años 80 y 90 del siglo pasado se comenzaron a utilizar enzimas en la alimentación animal en Europa debido principalmente a que aumentaban la digestibilidad de los nutrientes haciendo más eficientes las dietas y reduciendo la excreción de contaminantes. Actualmente esta práctica se ha extendido mundialmente y se ha desarrollado una mayor tecnología en cuanto a la producción y aplicación de enzimas comerciales en la alimentación animal.

En el mercado existe un producto comercial desarrollado en el extranjero que está compuesto por un complejo enzimático (xilanasas, amilasas y proteasas) que podría favorecer el aprovechamiento de algunos de los nutrientes de mayor importancia en la formulación de dietas de pollos de engorde: proteína bruta, aminoácidos digestibles y energía metabolizable. De manera que se beneficiaría el productor y consumidor final al reducir los costos.

Este aditivo, por medio de la xilanasas, liberaría nutrientes al degradar complejos polisacáridos (arabinosilanos), mientras que, la amilasa y proteasa, ayudarían a la digestión de almidón y proteína, respectivamente, como complemento de las enzimas endógenas del tracto gastrointestinal. Esta acción de las enzimas exógenas también mejoraría la salud intestinal.

A pesar de que en la literatura existen resultados positivos con el uso de este tipo de aditivos, no hay datos suficientes que corroboren el beneficio de este producto comercial en específico que hayan sido obtenidos bajo condiciones locales. Esto debido a que el efecto de las enzimas en el desempeño productivo puede variar dependiendo de la genética usada en la zona, las condiciones de crianza y el tipo de alimentación.

La actividad enzimática varía en función del grano usado en la dieta y la composición nutricional del mismo, los complejos enzimáticos que contienen xilanasas suelen usarse en dietas cuya principal fuente de energía son cereales viscosos, los cuales tienen un alto nivel de arabinosilanos solubles; sin embargo, en el Perú y especialmente en la zona costera donde se realizó la evaluación, la principal fuente de energía es el maíz, el cual es un cereal no viscoso pero con presencia de arabinosilanos insolubles, por lo que resulta de interés evaluar el efecto del complejo enzimático sobre dietas en base a maíz con reducción de nutrientes. En este caso se disminuyeron tanto el nivel de energía como el de proteína y aminoácidos, lo que resulta en un alto nivel de restricción que el complejo enzimático debe compensar.

Por lo tanto, el objetivo del presente estudio es evaluar el desempeño productivo, la morfometría intestinal y el rendimiento económico de 1 – 28 días de la inclusión de un complejo enzimático (xilanasas, amilasas, proteasas) que favorezca la liberación de nutrientes y una óptima salud intestinal en una dieta maíz-soya con restricción de nutrientes de pollos de engorde de la línea COBB 500.

I. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Enzimas

Las enzimas son polímeros biológicos casi todas proteínas (99 %), excepto por algunas moléculas de ARN llamadas ribozimas (1 %). Estos polímeros catalizan prácticamente todas las reacciones bioquímicas en un organismo (Harvey y Ferrier, 2012; Murray *et al.*, 2013; Berg *et al.*, 2015; Punekar, 2018).

Algunas enzimas requieren de componentes no proteicos para cumplir su función. Los cofactores enzimáticos pueden ser iones, mientras que, las coenzimas, son moléculas orgánicas complejas. La presencia equilibrada de un conjunto de enzimas, y de los cofactores y coenzimas si son requeridos, es esencial para la desintegración de nutrientes a fin de proporcionar energía y bloques de construcción químicos (Feduchi *et al.*, 2014; McKee y McKee, 2014; Berg *et al.*, 2015; Nelson y Cox, 2017).

Las enzimas son catalizadores en extremo selectivos y específicos, tanto para el tipo de reacción catalizada como para un sustrato único o un pequeño conjunto de sustratos estrechamente relacionados. Su especificidad se debe a la presencia de una región con forma de hendidura llamada sitio o centro activo, cuya naturaleza está determinada por los aminoácidos que la conforman y su distribución espacial (McKee y McKee, 2014; Feduchi *et al.*, 2014; Berg *et al.*, 2015; Susuki, 2015).

Las cadenas laterales de aminoácidos participan en la unión con el sustrato y en la transformación a producto. La unión se conoce como el complejo enzima-sustrato (ES), la cual causa una alteración conformacional en la enzima permitiendo la catálisis. Luego el complejo ES se convierte en el complejo enzima-producto (EP), el cual posteriormente se disocia en enzima y producto (McDonald *et al.*, 2011; Harvey y Ferrier, 2012; Feduchi *et al.*, 2014; Nelson y Cox, 2017).

Las reacciones catalizadas por enzimas son muy eficientes debido a que tienen velocidades extremadamente elevadas, siendo de 10^3 a 10^8 más rápidas que las reacciones no catalizadas (Harvey y Ferrier, 2012; Berg *et al.*, 2015; Ferrier, 2017). Las enzimas no se alteran de forma permanente, es decir no son consumidas durante la reacción que catalizan, por lo

que disminuyen la energía de activación que se requiere para una reacción química (Rodwell *et al.*, 2015).

Su actividad puede ser regulada a fin de que la formación de producto responda a la necesidad del organismo, algunos factores que la afectan son la concentración de la enzima, la concentración del sustrato y la presencia de sustancias inhibidoras y activadoras (Susuki, 2015; Nelson y Cox, 2017; Ahern, 2019). Además, la velocidad de reacción se ve influida por la concentración de sustrato, la temperatura y el pH (Aehle, 2007; Harvey y Ferrier, 2012).

Se agrupan en seis clases dependiendo del tipo de reacción que catalizan: oxidorreductasas, transferasas, hidrolasas, liasas, isomerasas y ligasas. Las enzimas utilizadas en esta evaluación son del tipo hidrolasas, pues catalizan la división hidrolítica de C-C, C-O, C-N y otros enlaces. Son un tipo especial de transferasa que transfiere un grupo –OH desde el agua, además, las reacciones que catalizan son de carácter irreversible (Aehle, 2007; Harvey y Ferrier, 2012; Feduchi *et al.*, 2014; McKee y McKee, 2014; Rodwell *et al.*, 2015; Brahmachari *et al.*, 2017; Nelson y Cox, 2017; Bajpai, 2018; Punekar, 2018).

2.2. Enzimas en la industria

Todos los organismos vivos producen enzimas, pero los microorganismos son la mayor fuente de enzimas usadas a nivel industrial, ya que producen grandes concentraciones de enzimas extracelulares (Sumano y Gutierrez, 2010; Brahmachari *et al.*, 2017; Punekar, 2018).

Los microorganismos usados para la obtención de enzimas son principalmente representados, en el caso de bacterias, por varias especies del género *Streptomyces* y del género *Bacillus*, mientras que, en el caso de los hongos, son principalmente representados por los géneros *Aspergillus*, *Mucor* y *Rhizopus* (Brahmachari *et al.*, 2017; Valdivia *et al.*, 2019).

Estos microorganismos se obtienen explorando la naturaleza, pues hay una vasta formación de actividades catalíticas, entre las que se puede seleccionar una enzima con las propiedades deseadas para alguna actividad industrial específica (Punekar, 2018; Vogel y May, 2019). En la actualidad, se conocen más de 3000 enzimas diferentes, pero solo el 5% son usadas comercialmente (Brahmachari *et al.*, 2017).

Las enzimas naturales a menudo no se pueden utilizar para la biocatálisis industrial y necesitan modificaciones, por esta razón se está continuamente optimizando la selección, recombinación, expresión y producción de enzimas. Los métodos disponibles para mejorar la producción de enzimas son brindados por la biotecnología, especialmente por la ingeniería genética y proteica (Brahmachari *et al.*, 2017; Bajpai, 2018; Simões y Kumar, 2018; Vogel y May, 2019).

Las enzimas tienen aplicaciones en diversas industrias como: alimentación, farmacéutica, detergentes, textiles, cuero, papel, plásticos, biocombustibles, medio ambiente, etc. Siendo que el mayor sector del mercado de enzimas es el de alimentación humana, seguido del sector de alimentación animal (Bajpai, 2018; Puneekar, 2018; Simões y Kumar, 2018; Vogel y May, 2019).

Recientemente, la industria ha enfatizado el desarrollo de enzimas termoestables, económicas, confiables y eficientes (Rodwell *et al.* 2015). Para ello también es de importancia la presentación comercial de las enzimas, por lo que se formulan productos con el objetivo de minimizar la pérdida de actividad enzimática durante el transporte, almacenamiento y uso (Aehle, 2007; Brahmachari *et al.*, 2017).

2.2.1. Aplicación en alimentación animal

En los años 80, el uso de xilanasas y glucanasas en la alimentación animal revolucionó la industria de la avicultura en Europa, donde las dietas están compuestas predominantemente de cebada y trigo, posteriormente, en los años 90, la industria se volvió a revolucionar con el uso de las fitasas, debido a una cada vez más exigente legislación ambiental. Actualmente el potencial de crecimiento está en la inclusión de carbohidrasas a dietas en base a maíz, debido a que se estima que el 80% de la alimentación mundial de aves y cerdos está basada en maíz y solo un tercio contiene carbohidrasas (Bedford y Partridge, 2010; Parameswaran *et al.*, 2019).

Las enzimas incluidas principalmente en alimentación animal son: las enzimas degradadoras de polisacáridos no amiláceos (celulasas, xilanasas, glucanasas, manasas y pectinasas) y las fitasas, seguidas en menor proporción por las proteasas y amilasas, las cuales son usualmente usadas como parte de un producto combinado (Sumano y Gutierrez, 2010; Brahmachari *et al.*, 2017; Bajpai, 2018; Simões y Kumar, 2018; Parameswaran *et al.*, 2019).

Los cerdos y las aves no pueden digerir entre el 15-25% del alimento que consumen. Por esta razón, se adicionan enzimas exógenas en alimentación de los animales, para: reducir la viscosidad, incrementar la absorción de nutrientes, liberar nutrientes por hidrólisis de fibras no degradables o por la liberación de nutrientes bloqueados por estas fibras y reducir la cantidad de heces (Aehle, 2007; Bedford y Partridge, 2010; Sumano y Gutierrez, 2010; Rodwell *et al.* 2015; Brahmachari *et al.*, 2017; Bajpai, 2018; Parameswaran *et al.*, 2019).

También son afectados los componentes de la salud intestinal, incluyendo: morfología intestinal, población de bacterias y metabolitos microbianos en el contenido intestinal. Sin embargo, el desempeño de las enzimas varía dependiendo del tipo de grano (sustrato) y de la enzima (Sumano y Gutierrez, 2010; Simões y Kumar, 2018).

Las enzimas exógenas deben ser capaces de adaptarse a las condiciones del tracto digestivo, tales como el bajo pH gástrico y el efecto proteolítico de la pepsina, para poder ejercer su efecto (Bühler *et al.*, 1998).

2.3. Complejo enzimático

Los complejos enzimáticos son un tipo de producto que combina diversas enzimas que ejercen su acción simultáneamente, favoreciendo la digestibilidad de los nutrientes, pues estos se encuentran en la naturaleza como complejos con numerosos enlaces a proteínas, grasas y carbohidratos complejos (Cowieson *et al.*, 2006; Ravindran, 2010; Vásquez *et al.*, 2020).

Usualmente una preparación de producto de enzimas para alimentación animal es una combinación de enzimas que contienen glucanasas, xilanasas y amilasas (Brahmachari *et al.*, 2017), pues los polisacáridos son las biomoléculas que comprenden la mayor cantidad de biomasa en este planeta. (Punekar, 2018).

En un complejo multienzimático compuesto por xilanasas, amilasa y proteasa; la xilanasas digiere a los arabinoxilanos solubles e insolubles de la fibra provocando la liberación de nutrientes encapsulados, la amilasa maximiza la digestibilidad del almidón y la proteasa hidroliza a las proteínas de almacenamiento mejorando la digestibilidad de los aminoácidos y la accesibilidad al almidón, además, reduce los antinutrientes como inhibidores de tripsina y lectinas (Díaz, 2004; Cowieson, 2005; Cowieson *et al.*, 2006; Danisco Animal Nutrition, 2014a).

2.3.1. Xilanasas

Las xilanasas son un grupo de enzimas glucósido hidrolasas que degradan los xilanos en xilosas al catalizar la hidrólisis del enlace glicosídico (β -1,4). Están compuestas de dos clases de enzima: la β -1,4-endoxilanasas, la cual hidroliza el enlace inicial de la columna de xilano a xilooligosacáridos, y la β -xilosidasa, que convierte los xilooligómeros a monómeros (xilosa) (Aehle, 2007; Polaina y MacCabe, 2008; Shewry y Ward, 2009; Brahmachari *et al.*, 2017; Simões y Kumar, 2018).

Las paredes celulares de los cereales se caracterizan por la presencia de xilanos ácidos (arabinoxilanos) y una mezcla de glucanos. Los arabinoxilanos son hemicelulosas que tienen una columna de xilosa con cadenas laterales de arabinosa. Están comprendidos por una columna lineal de β -1,4-xilopiranosas y cadenas laterales de arabinofuranosa unidas mediante enlaces α -(1,3) y α -(1,2) (Bedford y Partridge, 2010; Simões y Kumar, 2018).

Los arabinoxilanos han sido identificados en una variedad de tejidos de los principales cereales: trigo, centeno, cebada, avena y sorgo. En la mayoría de los cereales, las delgadas paredes que rodean las células del endospermo almidonado y la capa de aleurona, las fracciones más valiosas del grano, están constituidas predominantemente de arabinoxilanos (60% - 70%), las excepciones son las paredes celulares del endospermo de la cebada (20%) y arroz (40%). Los tejidos no endospermicos del trigo, particularmente el pericarpio y la testa, también contienen altos niveles de arabinoxilanos (64%) (Aehle, 2007; Simões y Kumar, 2018).

Estos polisacáridos no pueden ser degradados por las enzimas endógenas del animal y se distinguen por tener una fracción soluble (arabinoxilanos solubles) y otra insoluble (arabinoxilanos insolubles). Los arabinoxilanos insolubles retienen nutrientes como proteínas y almidones dentro de las paredes celulares fibrosas, los cuales no pueden ser accesibles por las enzimas intestinales; mientras que, los arabinoxilanos solubles, aumentan la viscosidad de la ingesta, dificultando el acceso de las enzimas digestivas a los nutrientes y disminuyendo la tasa de digestión. Otras formas en que los arabinoxilanos pueden actuar como antinutrientes son al retener agua y los nutrientes solubles en ella y al crear volumen en el intestino, ralentizando el movimiento del alimento y por tanto reduciendo la ingesta de alimento y el posterior crecimiento (Aehle, 2007; Bedford y Partridge, 2010; Vandeplas y Bodin, 2012; Nikham *et al.*, 2017; Matos *et al.*, 2015).

La enzima endo-1,4- β -xilanasas, es usada en la alimentación animal porque permiten reducir los efectos antinutricionales de los arabinosilanos mediante su hidrólisis parcial al liberar nutrientes de las células del endospermo y de la capa de aleurona, además de reducir la viscosidad intestinal; las paredes celulares del endospermo son degradadas más fácilmente que las paredes celulares de la capa de aleurona, debido a que estas son más gruesas. Otro mecanismo por el que las xilanasas pueden resultar beneficiosas es mediante la liberación de oligosacáridos que sean capaces de alcanzar el colon, donde actúan como prebióticos de *Bifidobacterium* y *Lactobacillus* spp. y a su vez suprimen el crecimiento de bacterias patogénicas como *Salmonella*, *Clostridium*, *Campylobacter* y *Escherichia coli* (Bedford y Partridge, 2010; Vandeplas y Bodin, 2012; Bajpai, 2018; Parameswaran *et al.*, 2019).

Las xilanasas son tradicionalmente usadas en las dietas a base de trigo, cebada y centeno, ya que los arabinosilanos son los principales polisacáridos del endospermo de estos cereales; sin embargo, también se han observado resultados positivos en dietas en base a maíz y sorgo, que tienen baja cantidad de arabinosilanos (Aehle, 2007; Shewry y Ward, 2009; Bedford y Partridge, 2010).

Varias bacterias del género *Bacillus* secretan xilanasas extracelulares; sin embargo, las especies de hongos filamentosos de géneros como *Trichoderma*, *Penicillium* y *Aspergillus* son los más usados en la alimentación animal, ya que son capaces de segregar grandes cantidades de xilanasas (Aehle, 2007; Bedford y Partridge, 2010; Brahmachari *et al.*, 2017).

2.3.2. Amilasas

Las amilasas son una clase de enzimas que catalizan la hidrólisis de los enlaces internos α -1,4-glicosídicos del almidón, degradándolo a azúcares como glucosa y maltosa. Están divididas en tres subclases: α - β - γ -amilasa de acuerdo al tipo de enlace que son capaces de adherirse. La mayoría son metaloenzimas que requieren Ca^{+2} para su actividad, integridad estructural y estabilidad (Polaina y MacCabe, 2008; Brahmachari *et al.*, 2017; Ferrier, 2017; Nelson y Cox, 2017; Wu, 2018; Parameswaran *et al.*, 2019).

El almidón es una fuente importante de almacenamiento de carbohidratos en casi todas las plantas, lo que lo convierte en el biopolímero más abundante en la naturaleza después de la celulosa. Está compuesto de amilosa, un polímero principalmente lineal de enlaces α -1,4-anhidroglucosa y amilopectina, un polímero altamente ramificado por la adición de

enlaces α -1,6-anhidroglucosa. Es más abundante en semillas, frutas, tubérculos y raíces; y en el caso del maíz, el almidón se encuentra predominantemente en el endospermo, aproximadamente 86 %, aunque alrededor del 4-5 % se encuentra en el germen y la aleurona respectivamente. (Polaina y MacCabe, 2008; Bedford y Partridge, 2010; McDonald et al., 2011; Akers y Denbow, 2013; Berg *et al.*, 2015; Cowieson *et al.*, 2018; Nelson y Cox, 2017; Simões y Kumar, 2018; Ahern, 2019).

El almidón puede ser clasificado de acuerdo a la relación almidosa-amilopectina como: ceroso, normal o amilaseo, cuando el porcentaje de amilosa se encuentra alrededor de 15 %, 16-35 % o >36 % respectivamente (Cowieson *et al.*, 2018); o de acuerdo a la facilidad con que es digerido: almidón de rápida degradación, almidón de lenta degradación o almidón resistente (Bedford y Partridge, 2010).

El almidón resistente es de particular interés, ya que escapan de la digestión en el intestino delgado y es parcial o totalmente degradado por fermentación para producir ácidos grasos de cadena corta y varios gases. Los almidones resistentes son clasificados en: (1) almidón físicamente inaccesible, por su encapsulación en semillas sin moler; (2) gránulo de almidón resistente, envasado en gránulos que son tan densos que el tiempo necesario para la digestión es más largo que el tiempo de paso en el intestino; (3) almidón retrogrado, que se forma cuando el almidón gelatinizado se enfría y con el tiempo forma cristales no degradables o (4) almidón artificial modificado químicamente. El almidón resistente en forma de gránulos está presente en los cereales, por lo que la cocción puede volver más eficiente su utilización en la alimentación de cerdos y pollos (Cowieson, 2005; Bedford y Partridge, 2010; Wu, 2018; Salazar-Acosta, 2019).

La degradación del almidón se inicia en la boca y el esófago por acción de la amilasa salival y es inactivada por el bajo pH del proventrículo, donde continúan degradándose por acción de la acidez. En el intestino delgado la α -amilasa secretada por el páncreas es la principal encargada de degradar los carbohidratos, posteriormente enzimas más específicas terminan la digestión convirtiendo casi todos los carbohidratos a monosacáridos. El almidón hidrolizado por enzimas en el intestino delgado produce glucosa como producto final para ser absorbido activamente a través de células del epitelio intestinal. Sin embargo, del almidón degradado por microorganismos, solo una pequeña fracción de la energía es disponible para el animal mediante la absorción de ácidos grasos de cadena corta (Bedford y Partridge, 2010; McDonald *et al.*, 2011; Boticario y Cascales, 2012; Lamby *et al.*, 2013; Dee Fails, y Magee, 2018).

En las aves de corral, el almidón suele ser bastante digerido, a menudo más del 95 % hasta el íleon terminal, pero esto es variable (Cowieson *et al.*, 2018). Algunas posibles razones para la variabilidad en la digestibilidad del almidón son: la relación amilosa-amilopectina, la presencia de almidón resistente y los cambios estructurales en la matriz almidón-proteína (los gránulos de almidón se encuentran incrustados en una matriz de proteína que es típicamente hidrofóbica y puede estar densa o ligeramente comprimida). Los almidones con una alta proporción de amilopectina en relación a la amilosa tienden a ser más fácilmente digestibles (Cowieson, 2005; Cowieson *et al.*, 2018; Salazar-Acosta, 2019).

La amilasa exógena se suplementa en el alimento junto con otras enzimas exógenas y complementa la actividad de la amilasa endógena al descomponer el almidón de los granos y subproductos; aumenta la digestibilidad del almidón y permite una mayor extracción de energía del alimento, lo que puede verse reflejado en la producción de carne y huevos. Sin embargo, el nivel de digestibilidad del almidón también varía según las diferencias genéticas del vegetal, condiciones de crecimiento, cosecha, manipulación, secado, almacenamiento y fabricación del alimento. Otro mecanismo por el cual la amilasa exógena podría resultar beneficiosa es mediante el ahorro de energía y aminoácidos al reducir la necesidad de producir enzimas endógenas, especialmente de glicina y serina, ya que la amilasa pancreática está compuesta en 16-17 % por Glic+Ser. (Bedford y Partridge, 2010; Sumano y Gutierrez, 2010; Cowieson *et al.*, 2018; Parameswaran *et al.*, 2019).

Las α -amilasas usadas en la industria son producidas principalmente por bacterias del género *Bacillus*, especialmente: *B. stearothermophilus*, *B. amyloliquefaciens* y *B. licheniformis*. Sin embargo, también se usan algunas especies de hongos que se limitan principalmente al género *Aspergillus* y a algunas especies del género *Penicillium* (Aehle, 2007; Polaina y MacCabe, 2008; Brahmachari *et al.*, 2017; Parameswaran *et al.*, 2019).

2.3.3. Proteasas

Las proteasas son un grupo extenso y complejo de enzimas que catalizan la hidrólisis de los enlaces covalentes peptídicos de proteínas y péptidos. Pueden ser clasificadas en base al pH, especificidad del sustrato, similitud a enzimas bien caracterizadas y a los aminoácidos del sitio activo (aspartato, cisteína, glutamato, metalo, serina y treonina)

(Brahmachari *et al.*, 2017; Simões y Kumar, 2018; Ahern, 2019; Parameswaran *et al.*, 2019).

Las proteínas son compuestos orgánicos complejos constituidos por cadenas de aminoácidos unidos por enlaces peptídicos. Los aminoácidos se caracterizan por tener un grupo nitrogenado básico, una unidad carboxilo ácida y un radical. Las proteínas presentan estructuras primarias, secundarias, terciarias y cuaternarias; tienen propiedades coloidales, son anfóteras, exhiben características isoelectricas y actúan como buffers. Se encuentran en todas las células, pues están íntimamente ligadas con todas las fases de actividad que constituyen la célula (McDonald *et al.*, 2011; Berg *et al.*, 2015; Ferrier, 2017; Nelson y Cox, 2017; Reece y Rowe, 2017; Lundblad y Macdonald, 2018; Wu, 2018; Ahern, 2019).

La digestión de proteínas inicia en el proventrículo, al desnaturalizarse por acción del ácido clorhídrico, seguido de la hidrólisis por acción de la pepsina, cuyo precursor, el pepsinógeno, se activa por el medio ácido. La pepsina es una endoproteasa que divide la mayor cantidad de proteínas del alimento en polipéptidos. Posteriormente, el tripsinógeno, quimiotripsinógeno, proelastasa y procarboxipeptidasa, producidos en el páncreas, son secretados en el duodeno. Una vez en el intestino, el tripsinógeno es activado por la enteroquinasa a tripsina, y esta a su vez activa al resto de las pro-enzimas. La tripsina, quimiotripsina y elastasa son endoproteasas que liberan pequeños oligopéptidos. La acción de estas enzimas es continuada por las carboxipeptidasas (exopeptidasas) producidas por el páncreas y los enterocitos del intestino delgado, y las aminopeptidasas (exopeptidasas y endopeptidasas) originadas en los enterocitos del intestino delgado. Posteriormente se da la degradación a aminoácidos individuales mediante las dipeptidasas presentes en el borde de cepillo intestinal. Los péptidos no digeridos, ni absorbidos en el intestino delgado, pasan al colon donde son metabolizados por la microbiota intestinal (García y López, 2007; Frandson *et al.*, 2009; Segura-Campos *et al.*, 2010; Akers y Denbow, 2013; Ferrier, 2017; Simões y Kumar, 2018; Dee Fails, y Magee, 2018; Wu, 2018; Aspinall y Cappello, 2020).

Las proteasas actúan en la parte superior del tracto gastrointestinal del animal. Las hipótesis del mecanismo de acción son las siguientes: acción conjunta de las enzimas exógenas y las enzimas endógenas sobre el sustrato, aumento de la digestibilidad; la proteasa exógena inicia la degradación de la proteína y luego las enzimas endógenas continúan la hidrólisis, aumento de la eficiencia en la digestión de proteína (tasa de

pasaje); descomposición de antinutrientes como los inhibidores de tripsina y las lectinas y, por último; ahorro de energía y aminoácidos como un efecto indirecto de una necesidad menor de sintetizar proteasa endógena. En adición, pueden ayudar a degradar algunas proteínas de almacenamiento que están ligadas al almidón, el cual, al liberarse, puede ser digerido por el animal. (Bedford y Partridge, 2010; Martínez-Alesón Sanz *et al.* 2010; Bajpai, 2018; Simões y Kumar, 2018).

Las proteasas exógenas deben ser estables y activas en el intestino, sin impactar negativamente a través de la acción proteolítica a: órganos internos, mucosas, membranas ni células y deberían trabajar principalmente en el alimento al pH al que ocurre su paso por el intestino (Simões y Kumar, 2018).

Los microorganismos producen dos tercios de las proteasas comerciales. Las proteasas alcalinas de serina son el grupo predominante de proteasas producidas por bacterias, hongos, levaduras y actinomicetos. Los principales productores de proteasas alcalinas comerciales modificadas mediante ingeniería son los producidos por *Bacillus licheniformis*, los *Bacillus sp. alcalofílicos* y *Aspergillus sp.* (Aehle, 2007; Brahmachari *et al.*, 2017; Bajpai, 2018).

2.4. Factores que influyen en la actividad de enzimas exógenas

Aunque los beneficios del uso de enzimas en nutrición animal están comprobados, hay ciertos casos donde el resultado varía o incluso puede llegar a ser carente. Por ejemplo, el contenido de sustrato en la dieta puede ser tan bajo que no causa efectos negativos en primer lugar, el pH en el tracto digestivo puede no ser el óptimo o la temperatura a la que se someten en el proceso de producción del alimento podría causar su desnaturalización (Bedford y Partridge, 2010; Valdivia *et al.*, 2019).

2.4.1. Composición de los ingredientes

En Europa, los cereales más usados para la alimentación de aves y cerdos son el trigo y la cebada; mientras que, en Latinoamérica, el maíz es el cereal más utilizado, el cual tiene un contenido más bajo de fibra y es altamente digestible (Bedford y Partridge, 2010; Parameswaran *et al.*, 2019). En tanto, la soya es la principal fuente de proteína para alimentación animal a nivel mundial (Melgar *et al.*, 2011).

El maíz más usado en el país en cuanto a alimentación animal es el llamado maíz *dent* (dentado), el cual consiste de un núcleo harinoso con inclusiones laterales de almidón

vítreo, las zonas vítreas son las que poseen una mayor proporción de proteínas (MINAGRI, 2015; Cowieson *et al.*, 2018). Los gránulos de almidón del maíz están incrustados en una matriz de proteína, por lo que la inclusión de proteasas mejoraría la digestibilidad del almidón (Cowieson *et al.*, 2018).

El almidón de cereales no viscosos como el maíz varía en cuanto a digestibilidad según la presencia de almidón resistente, la relación de amilosa-amilopectina y la matriz almidón-proteína-lípidos, existe la posibilidad de que esta aumente al adicionar una amilasa con actividad significativa (Ravindran, 2010; Cowieson *et al.*, 2018; Salazar-Acosta, 2019).

Los gránulos de almidón resistente son tan densos que el tiempo necesario para la digestión es más largo que el tiempo de paso en el intestino (Cowieson, 2005; Wu, 2018; Salazar-Acosta, 2019). Por lo que el almidón resistente requiere amilasas exógenas adicionales u otro tipo de enzimas, pues es poco probable que esta restricción sea resuelta por secreciones pancreáticas (Cowieson *et al.*, 2018)

El efecto de las enzimas depende de la disponibilidad del sustrato, el maíz posee despreciables cantidades de β -glucanos y 0.1 - 0.5% de arabinoxilanos solubles, por lo que hay probabilidad de no obtener una respuesta significativa a la suplementación de enzimas degradadoras de polisacáridos no amiláceos; sin embargo, hay casos con respuestas positivas (Cowieson, 2005; Bedford y Partridge, 2010).

Esto se podría deber a que, aunque los contenidos de arabinoxilanos son bajos, el maíz contiene aproximadamente 5% de arabinoxilanos insolubles. El efecto beneficioso provendría de la destrucción de las paredes de las células del endospermo y la liberación de proteínas y almidones atrapados dentro (Bedford y Partridge, 2010; Ravindran, 2010).

Aunque las dietas maíz-soya son altamente digestibles para pollos de engorde, pueden contener diversos complejos de proteína que no son fácilmente digestibles por pollos jóvenes, además de la presencia de inhibidores de tripsina y lectinas, factores que pueden ser contrarrestados con el uso de proteasas (Doskovic, 2013; Cowieson *et al.* 2018)

Otras posibles causas de una falta de respuesta positiva por la inclusión de una enzima exógena en la dieta serían el bajo contenido de nutrientes, por ejemplo, la reducida cantidad de almidón en el endospermo causada por condiciones desfavorables como sequías durante la última etapa del crecimiento de la planta; y la no eficiencia de las

enzimas por un alto nivel de inhibidores en los cereales (Cowieson *et al.*, 2006; Aehle, 2007).

2.4.2. Condiciones del tracto digestivo

Las enzimas exógenas actúan desde el momento en que el alimento comienza a humectarse en el tracto gastrointestinal anterior, hasta el momento en que pasan el intestino delgado. Las condiciones en las distintas partes del tracto intestinal varían, por lo cual resulta de relevancia el tiempo de retención del alimento en cada sección y el pH al que son sometidas las enzimas exógenas, pues de esto depende el nivel de actividad que muestren (Sumano y Gutiérrez, 2010; Angel *et al.*, 2013).

El tiempo que permanece el alimento dentro del organismo del animal es directamente proporcional al tiempo que tiene la enzima exógena para actuar sobre los nutrientes; sin embargo, también se debe tener en cuenta que, a menor tasa de pasaje, menor es el consumo (Angel *et al.*, 2013). El tiempo de retención resulta limitante sobre todo en el buche, donde además el alimento llega con una baja hidratación, y en la molleja (Bedford y Partridge, 2010).

El pH es variable en el buche y molleja; mientras que, en el intestino, es mucho más estable. En el caso de los pollos de engorde, el pH en el buche suele ser mayor a 6.0 (Ao *et al.*, 2008); sin embargo, este puede disminuir con un mayor tiempo de retención en la zona por acción de bacterias productoras de ácido láctico (Bedford y Partridge, 2010). Mientras que, el valor promedio del pH en la molleja es de 3.5, el cual puede reducirse aproximadamente entre 0.2–1.2 con un mayor tiempo de retención, pues favorece una mayor secreción ácida (Jimenez-Moreno *et al.*, 2009; Bedford y Partridge, 2010). En cuanto al pH en el intestino, este es más estable debido a las secreciones alcalinas, y normalmente se encuentra entre 6.5 a 7.5 (Sumano y Gutiérrez, 2010).

La actividad enzimática varía dependiendo del pH de cada zona del tracto digestivo por donde pasen las enzimas. Las xilanasas producidas por hongos como *Trichoderma* tienen un rango de pH óptimo de 2.5 a 5.0 (Díaz, 2004), por lo que las condiciones del tracto digestivo anterior son más beneficiosas para estas enzimas, mientras que las amilasas producidas por *Bacillus licheniformis* tienen un pH óptimo de 7.0, debido a esto, las condiciones del intestino delgado son más favorables para ellas (Rojo-Rubio *et al.*, 2001).

2.4.3. Proceso de producción del alimento

La temperatura óptima de la mayoría de enzimas usadas hoy en día está entre 45 y 65° C; sin embargo, son sometidas al proceso de manufactura donde se alcanzan temperaturas entre 65 – 100° C, por lo que deben ser termotolerantes durante el proceso de producción y en cuerpo del animal (Aehle, 2007; Bedford y Partridge, 2010; Brahmachari *et al.*, 2017).

Las opciones que se tienen para reducir el efecto de la temperatura son: adicionar las enzimas por pulverización disueltas en agua al final del proceso, usar enzimas recubiertas, usar enzimas producidas por microorganismos termófilos o, la opción más efectiva, usar enzimas modificadas mediante ingeniería de proteínas (adición de enlaces bisulfuro o iones metálicos a la estructura) (Cowieson, 2005; Amerah *et al.*, 2011; Bedford y Partridge, 2010).

El procesamiento aumenta la digestibilidad de nutrientes por la gelatinización del almidón, ruptura de la matriz de la pared celular y desactivación de inhibidores enzimáticos, por lo que la relevancia de las enzimas exógenas para aumentar la digestibilidad disminuye. Sin embargo, también puede llevar a la pérdida de nutrientes, además de aumentar la viscosidad del alimento por favorecer la gelatinización del almidón y aumentar la solubilidad de la fibra, en cuyo caso la presencia de xilanasas reduciría este efecto (Amerah *et al.*, 2011; Cowieson, 2015).

2.5. Histología del intestino delgado

El interior del intestino delgado contiene pliegues llamados plicae circular, mientras que la mucosa tiene proyecciones en forma de dedos llamadas vellosidades intestinales, las cuales están cubiertas con epitelio columnar simple que tiene microvellosidades formando el borde de cepillo. La combinación de los plicae, vellosidades y microvellosidades incrementa el área de superficie del intestino delgado en aproximadamente 600 dobles (Reece *et al.*, 2015; Reece y Rowe, 2017).

Las vellosidades contienen células caliciformes que secretan moco en el lumen, estas se encuentran entre las células del epitelio columnar simple (Frandsen *et al.*, 2009; Reece y Rowe 2017). Las microvellosidades contienen enzimas incrustadas: carbohidrasas (α -dextrinasas, maltasas y sacarasas), proteasas (aminopeptidasas y dipeptidasas), digestoras de nucleótidos (nucleosidasas y fosfatidasas) y la enteroquinasa (enzima que activa el tripsinógeno). Cabe mencionar que dentro de cada vellosidad hay una extensa red de

capilares que se originan en la submucosa, además de un capilar linfático (Frandsen *et al.*, 2009; Akers y Denbow, 2013; Reece *et al.*, 2015).

En la base de cada vellosidad hay entradas a las glándulas intestinales o criptas de Lieberkühn, las cuales secretan un mucus acuoso que contiene jugo intestinal que ayuda con la absorción de nutrientes y, en la base de cada glándula, hay células madre que producen nuevas células epiteliales que migran por las vellosidades. También se encuentran dentro de las criptas las células de Paneth, que secretan lisozimas y son parte del sistema inmune. (Frandsen *et al.*, 2009; Reece y Rowe 2017; Dee Fails y Magee, 2018).

Bajo la mucosa se encuentra la submucosa, formada por tejido conectivo areolar. Contiene agregados de tejido linfático llamados placas de Peyer los cuales se vuelven más numerosos hacia el final del intestino delgado en el íleon para prevenir que las bacterias ingresen al torrente sanguíneo; también contiene glándulas duodenales o glándulas de Brunner, las cuales producen grandes cantidades de moco alcalino para proteger el epitelio del quimo ácido que llega del estómago (Frandsen *et al.*, 2009; Akers y Denbow, 2013; Reece y Rowe 2017; Dee Fails, y Magee, 2018).

La túnica muscular está debajo de la submucosa y comprende las capas del músculo liso circular interno y longitudinal externo, el plexo mientérico nervioso reside entre las dos capas musculares. Fuera de esta capa está la túnica serosa, una capa unicelular de epitelio escamoso en un tejido conectivo o adventicia (Reece *et al.*, 2015; Reece y Rowe 2017).

Una herramienta ampliamente usada para medir la salud intestinal es la morfometría intestinal. Unas vellosidades intestinales más largas y anchas, además de un mayor número de ellas, representa una mayor superficie de absorción, lo que se podría traducir en un mayor nivel de performance productiva por parte de los animales (Gómez y Roa, 2011; Souza, 2015; Ordoñez, 2018).

2.6. Antecedentes en el uso de complejo enzimático

En el Cuadro 1 se muestra el efecto de ensayos que evaluaron el efecto sobre diversos parámetros de la inclusión de complejos enzimáticos en la dieta de pollos de engorde.

Cuadro 1. Efecto de la suplementación de enzimas en dietas de pollos de engorde sobre diversos parámetros

| Composición de las dietas | Enzimas o combinación de enzimas | Modo de inclusión | Efecto sobre el control | Referencia |
|---------------------------|----------------------------------|--|--|------------------------------|
| Maíz-soya | Xilanas-amilasa-proteasa | On top y reducción de energía/proteína | Aumento de la GP en 7.7 %, reducción del CON en 4.0 % y la CA en 9.8 % | Cortés <i>et al.</i> (2002) |
| Sorgo-soya | Xilanas-amilasa-proteasa | On top y reducción de energía/proteína (90 kcal/ kg y 3% proteína) | Reducción del CON en 2.5 % y de la CA en 3.7 % | |
| Maíz-soya | Xilanas-amilasa-proteasa | On top y reducción de energía y aminoácidos (150 kcal/kg y 3% aminoácidos) | Aumento de la GP en 5.8 %, EMA en 2.8%, RAN en 11.8%, EMAN en 2.0%, DIN en 2.6%, mejora de la CA en 3.0 % | Cowieson y Ravindran (2008a) |
| Maíz-soya | Xilanas-amilasa-proteasa | Reducción de energía y aminoácidos (150 kcal/kg y 3% aminoácidos) | Aumento del CON en 5.4%, y mejora de la GP en 8.3%, la CA en 2.2%, el CTRMST en 2.7%, la EMA en 2.1%, la EMAN en 2.2%, la DIMS en 3.4%, la DIN en 3.8%, la DIEB en 3.4% y la EDI en 3.4% | Cowieson y Ravindran (2008b) |

| | | | | |
|--|-------------------------------|--|--|-------------------------------------|
| Maíz-soya | Xilanasa- amilasa-proteasa | Reducción de energía y proteína (3.5% de energía y proteína) | No hubo diferencia significativa | Romero (2008) |
| Trigo-soya | Xilanasa | On top | Aumento de la DPC en 11.09 % y la DGC en 6.37 %, reducción de la VDI en 66.79 % y la VDY en 44.02 %. | Khoramabadi <i>et al.</i> (2014) |
| Maíz-soya | Xilanasa | On top | Aumento de la GP en 1.7 %, el RC en 0.5% y la RVC en 6.4 %, reducción de la CA en 1.1 %, la AV en 5.0 % y la PC en 10.9% | Souza (2015) |
| Maíz-soya- harina de carne y hueso | Xilanasa- amilasa-proteasa | Reducción de energía y aminoácidos (86 kcal/kg y 1.5 % aminoácidos) | Aumento de la DN en 5.8% | Amerah <i>et al.</i> (2016) |
| Maíz-soya | Xilanasa- amilasa-proteasa | Reducción de energía y aminoácidos (140 kcal/kg y 2% aminoácidos) | Aumento del RC en 4.4% y reducción del PREI en 12.0% | Suarez (2017) |

| | | | | |
|-----------|--|--------|---|----------------|
| Maíz-soya | Xilanasas- glucanasas- enzimas desramificantes- celulasas- pectinasas- proteasas | On top | Aumento del RC en 2.52% y la TC en 12.45%, reducción de la PC en 9.29% y el CEC en 3.27% | Ordoñez (2018) |
|-----------|--|--------|---|----------------|

AV: altura de vellosidad, CA: conversión alimenticia, CEC: conteo de *Escherichia coli*, CON: consumo de alimento, CTRMST: coeficiente total de retención de materia seca del tracto, DGC: digestibilidad de grasa cruda, DIEB: digestibilidad ileal de energía bruta, DIN: digestibilidad ileal de nitrógeno, DIMS: digestibilidad ileal de materia seca, DN: digestibilidad de nitrógeno, DPC: digestibilidad de proteína cruda, EDI: energía digestible ileal, EMA: energía metabolizable aparente, EMAN: energía metabolizable aparente corregida por nitrógeno GP: ganancia de peso, PC: profundidad de cripta, PREI: peso relativo del estómago e intestinos, PV: peso vivo, RAN: retención aparente de nitrógeno, RC: rendimiento de carcasa, RVC: relación de altura de velocidad y profundidad de cripta, TC: terneza de la carne, VDI: viscosidad de digesta en íleon, VDY: viscosidad de digesta en yeyuno

II. METODOLOGÍA

3.1. Lugar de ejecución y tiempo de duración

El estudio tuvo lugar en las instalaciones del Laboratorio de Investigación en Nutrición y Alimentación de Aves (LINAA) de la Universidad Nacional Agraria la Molina (UNALM). La preparación de las dietas experimentales se realizó en la Planta de Alimentos Balanceados perteneciente al Programa de Investigación y Proyección Social en Alimentos Balanceados de la Facultad de Zootecnia en la UNALM. La duración de la prueba fue de 28 días.

3.2. Animales experimentales

Se usaron 75 pollos BB machos de la línea COBB 500 de un día de edad distribuidos en tres tratamientos con cinco repeticiones y cinco aves por repetición.

3.3. Instalaciones y equipos

El ensayo se realizó en jaulas galvanizadas de cinco pisos divididos en cuatro espacios. Cada uno de los corrales fue de 0.88 m de largo x 0.43 m de ancho x 0.23 m de alto, resultando en un área de 0.38 m². El agua y alimento se suministraron en bebederos y comederos lineales tipo canaleta ubicados en la parte externa de los corrales. La temperatura fue regulada mediante el uso de cortinas de plástico y campanas eléctricas, además fue controlada mediante el uso de termohigrómetros.

3.4. Producto evaluado

3.4.1. Complejo multienzimático

La presentación del producto fue de forma granular, seca y blanquecina. Estuvo compuesto por tres enzimas producidas por microorganismos genéticamente modificados: endo-1,4- β -xilanasas (número EC 3.2.1.8) producida por *Trichoderma reesei*, α -amilasa (número EC 3.2.1.1) producida por *Bacillus licheniformis* y proteasa (número EC 3.4.21.62) producida por *Bacillus subtilis*. El producto contó con una acción enzimática mínima garantizada de 4,000 U/g de xilanasas a pH 4.2 y 50 °C, 400 U/g de amilasa a pH 8.0 y 40 °C y 8,000 U/g de proteasa a pH 10.0 y 50° C.

La dosis recomendada es de 0.5 kg/tonelada de alimento, garantizando un mínimo de 2,000 U de xilanasa, 200 U de amilasa y 4,000 U de proteasa por kg de alimento.

3.5. Tratamientos

Los tratamientos a evaluar se observan en el Cuadro 2.

Cuadro 2. Composición de los tratamientos a evaluar

| Detalle | Tratamientos | | |
|---------------------|---------------------------------|---|---|
| | T1 | T2 | T3 |
| Dieta | Control (según manual Cobb 500) | Reducción de 100 kcal/kg y 3% de proteína y aminoácidos | Reducción de 100 kcal/kg y 3% de proteína y aminoácidos |
| Complejo Enzimático | X | X | 500 g/TM |

3.6. Programa de alimentación

La alimentación de las aves fue *ad libitum*, así como el suministro de agua. Se llevó un registro de alimento suministrado y el residual por semana. Las dietas en forma de harina fueron formuladas en base a los requerimientos sugeridos para la línea COBB 500, constando de dos fases: inicio (1 a 14 días) y crecimiento (15 a 28 días) cuya composición y valor nutricional calculado se presentan en los Cuadros 3 y 4.

Cuadro 3. Composición y valor nutricional calculado de las dietas por tratamiento en la fase de inicio (1 – 14 días)

| | Tratamientos ¹ | | |
|------------------------------------|---------------------------|----------|-------------|
| | T1 | T2 | T3 |
| Ingredientes (%) | | | |
| Maíz amarillo | 54.00 | 58.80 | 58.80 |
| Torta de soya (46% Pt) | 39.00 | 36.50 | 36.50 |
| Aceite vegetal | 3.50 | 1.20 | 1.20 |
| Carbonato de calcio | 1.05 | 1.10 | 1.10 |
| Fosfato dicálcico | 1.04 | 1.05 | 1.05 |
| Sal común | 0.30 | 0.30 | 0.30 |
| Bicarbonato de sodio | 0.20 | 0.20 | 0.20 |
| DL-metionina | 0.35 | 0.33 | 0.33 |
| Lisina-HCl | 0.12 | 0.13 | 0.13 |
| L-treonina | 0.11 | 0.12 | 0.12 |
| Premezcla vitamínica | 0.15 | 0.15 | 0.15 |
| Enzima fitasa | 0.02 | 0.02 | 0.02 |
| Micosecuestante | 0.10 | 0.10 | 0.10 |
| Enramicina 8 % | 0.015 | 0.015 | 0.015 |
| Anticoccidial | 0.025 | 0.025 | 0.025 |
| Cloruro de colina 60 % | 0.10 | 0.10 | 0.10 |
| Clorquinol 60 % | 0.005 | 0.005 | 0.005 |
| Complejo enzimático | - | - | 0.05 |
| Total | 100.00 | 100.00 | 100.00 |
| Valor nutricional calculado | | | |
| Energía metabolizable, Kcal/kg | 2,975.00 | 2,875.00 | 2,875.00 |
| Proteína cruda, % | 22.52 | 21.74 | 21.74 |
| Calcio, % | 0.85 | 0.85 | 0.85 |
| Fósforo disponible, % | 0.45 | 0.45 | 0.45 |
| Sodio, % | 0.19 | 0.19 | 0.19 |
| Arginina digestible, % | 1.43 | 1.37 | 1.37 |
| Lisina digestible, % | 1.25 | 1.21 | 1.21 |
| Metionina digestible, % | 0.66 | 0.64 | 0.64 |
| Met + Cis digestible, % | 0.98 | 0.94 | 0.94 |
| Treonina digestible, % | 0.88 | 0.85 | 0.85 |
| Triptófano digestible, % | 0.25 | 0.24 | 0.24 |
| Valina digestible, % | 0.96 | 0.93 | 0.93 |
| Isoleucina digestible, % | 0.91 | 0.87 | 0.87 |
| Ácido linoleico, % | 3.26 | 2.03 | 2.03 |

¹Tratamientos: **T1**, dieta control; **T2**, dieta ajustada sin complejo enzimático (control negativo); **T3**, dieta con complejo enzimático

Cuadro 4. Composición y valor nutricional calculado de las dietas por tratamiento en la fase de crecimiento (15-28 días)

| | Tratamientos | | |
|------------------------------------|--------------|----------|-------------|
| | T1 | T2 | T3 |
| Ingredientes (%) | | | |
| Maíz amarillo | 56.50 | 61.30 | 61.30 |
| Torta de soya (46% Pt) | 35.80 | 33.50 | 33.50 |
| Aceite vegetal | 4.40 | 1.90 | 1.90 |
| Carbonato de calcio | 1.10 | 1.10 | 1.10 |
| Fosfato dicálcico | 0.80 | 0.80 | 0.80 |
| Sal común | 0.30 | 0.30 | 0.30 |
| Bicarbonato de sodio | 0.20 | 0.20 | 0.20 |
| DL-metionina | 0.33 | 0.31 | 0.31 |
| Lisina-HCl | 0.13 | 0.15 | 0.15 |
| L-treonina | 0.11 | 0.12 | 0.12 |
| Premezcla vitamínica | 0.15 | 0.15 | 0.15 |
| Enzima fitasa | 0.02 | 0.02 | 0.02 |
| Micosecuestante | 0.10 | 0.10 | 0.10 |
| Enramicina 8 % | 0.015 | 0.015 | 0.015 |
| Anticoccidial | 0.025 | 0.025 | 0.025 |
| Cloruro de colina 60 % | 0.10 | 0.10 | 0.10 |
| Clorquinol 60 % | 0.005 | 0.005 | 0.005 |
| Complejo enzimático | - | - | 0.05 |
| Total | 100.000 | 100.000 | 100.00 |
| Valor nutricional calculado | | | |
| Energía metabolizable, Kcal/kg | 3,050.00 | 2,950.00 | 2,950.00 |
| Proteína cruda, % | 21.20 | 20.43 | 20.43 |
| Calcio, % | 0.80 | 0.80 | 0.80 |
| Fósforo disponible, % | 0.40 | 0.40 | 0.40 |
| Sodio, % | 0.19 | 0.19 | 0.19 |
| Arginina digestible, % | 1.33 | 1.27 | 1.27 |
| Lisina digestible, % | 1.18 | 1.14 | 1.14 |
| Metionina digestible, % | 0.62 | 0.60 | 0.60 |
| Met + Cis digestible, % | 0.92 | 0.89 | 0.89 |
| Treonina digestible, % | 0.83 | 0.80 | 0.80 |
| Triptófano digestible, % | 0.23 | 0.22 | 0.22 |
| Valina digestible, % | 0.91 | 0.88 | 0.88 |
| Isoleucina digestible, % | 0.85 | 0.82 | 0.82 |
| Ácido linoleico, % | 3.66 | 2.43 | 2.43 |

¹ **Tratamientos:** T1, dieta control; T2, dieta ajustada sin complejo enzimático (control negativo); T3, dieta con complejo enzimático

3.7. Mediciones

3.7.1. Peso vivo

El pesaje se realizó una vez por semana a la totalidad de las aves, la unidad de medida fue en gramos.

3.7.2. Ganancia de peso diario

La ganancia de peso fue calculada mediante la siguiente fórmula:

$$\text{GPD (g)} = (\text{Peso final (g)} - \text{Peso inicial (g)}) / \text{N}^\circ \text{ días}$$

GPD: ganancia de peso diario

3.7.3. Consumo de alimento

El consumo de alimento se determinó mediante la diferencia entre el alimento ofrecido y el residual en cada semana, la unidad de medida fue en gramos.

3.7.4. Conversión alimenticia

La conversión alimenticia se determinó mediante el uso de la siguiente fórmula:

$$\text{CA} = \text{Consumo de alimento (g)} / \text{Ganancia de peso vivo (g)}$$

CA: conversión alimenticia

3.7.5. Rendimiento de carcasa

Se determinó el rendimiento de carcasa sacrificando un ave por cada repetición en el día 28. Se seleccionaron las aves de similar peso al promedio de cada repetición.

El peso fresco de la carcasa fue el peso del pollo beneficiado ya desangrado, sin plumas y sin vísceras. El rendimiento de carcasa fue calculado mediante la siguiente fórmula:

$$\text{Rendimiento de carcasa (\%)} = (\text{Peso fresco de carcasa} / \text{Peso vivo}) \times 100$$

3.7.6. Parámetros de pechuga

La toma de medidas de los parámetros de pechuga se les practicó a las aves sacrificadas para la toma de muestras de intestinos para la evaluación de morfometría intestinal.

a. Peso de pechuga

Se determinó el peso (g) de las pechugas de aves sacrificadas a los 28 días de edad.

b. Largo y ancho de pechuga

Se midió el largo (cm) y ancho (cm) de las zonas más amplias de la pechuga.

c. Profundidad de pechuga

Se tomó la medida de profundidad (mm) de pechuga a ambos lados esta, en las zonas de mayor profundidad.

d. Rendimiento de pechuga

El rendimiento de pechuga se calculó mediante el uso de la siguiente fórmula:

$$RP (\%) = \text{Peso de pechuga (g)} * 100 \% / \text{Peso vivo a los 28 días (g)}$$

RP: rendimiento de pechuga

3.7.7. Morfometría intestinal

Se seleccionó un ave por cada repetición para ser sacrificada a los 28 días de edad para coleccionar porciones histológicas de yeyuno, se escogieron aves con pesos cercanos al promedio de cada repetición.

Las muestras se tomaron a 10 cm de distancia del divertículo de Meckel y el tamaño de cada porción fue de 2 cm. Las muestras se mantuvieron en formol al 40% hasta llegar al laboratorio donde se fijaron en portaobjetos.

Se midió el largo y ancho de vellosidad, profundidad de cripta y área de vellosidad. Esto se realizó mediante el uso de un microscopio LEICA DM L52 conectado a un computador que cuenta con LAS EZ SOFTWARE.

a. Altura de vellosidad

Se midió en micrómetros por el medio de la vellosidad desde la base hasta el ápice.

b. Ancho de vellosidad

Se tomó la medida en micrómetros aproximadamente a la mitad del largo de la vellosidad, uniendo los bordes de los lados opuestos.

c. Profundidad de cripta

Se midió en micrómetros las criptas presentes entre las vellosidades seleccionadas.

d. Área de vellosidad

Se realizó trazando el borde de toda la vellosidad con el software, el cual calculó el área en micrómetros cuadrados.

e. Índice intestinal

Se calculó el índice intestinal, que es la relación entre el largo de la vellosidad y la profundidad de cripta.

$$\text{Índice intestinal} = \text{largo de vellosidad } (\mu\text{m}) / \text{profundidad de cripta } (\mu\text{m})$$

3.7.8. Retribución económica

Se determinó como la diferencia del ingreso por ave menos el costo de alimentación.

$$\pi = P_y * Y - P_x * X$$

π : ingreso sobre el costo de alimentación (S/)

Y: peso vivo promedio del tratamiento (kg)

P_y : precio por kilogramo de peso vivo (S/kg)

X: consumo promedio de alimento del tratamiento (kg)

P_x : precio promedio de alimento del tratamiento (S/kg)

3.8. Análisis estadísticos

Se usó el Diseño Completamente al Azar (DCA), con tres tratamientos y cinco repeticiones por tratamiento, para ello se utilizó el paquete estadístico Statistical Analysis System (SAS, 1999). Para la comparación de medias se utilizó la Prueba de Tukey.

Modelo aditivo lineal:

$$Y_{ij} = \mu + t_i + e_{ij}$$

Donde:

Y_{ij} : observación en la unidad experimental

μ : media general

t_i : efecto del i-ésimo tratamiento

e_{ij} : efecto de la j-ésima unidad experimental a la que se le aplicó el i-ésimo tratamiento (error experimental)

III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Peso vivo y ganancia de peso

Los resultados de peso final y ganancia de peso de las aves que recibieron las dietas experimentales se muestran en el Cuadro 5. El peso vivo y la ganancia de peso de las aves que recibieron la dieta con inclusión del complejo enzimático (T3) al finalizar la etapa de inicio no mostraron diferencias significativas ($P>0.05$) respecto al control negativo (T2); sin embargo, los valores resultaron significativa ($P<0.05$) menores al control positivo (T1). En cuanto a la etapa de crecimiento y el periodo total no se observó diferencia significativa ($P>0.05$) entre los tratamientos evaluados.

Estos resultados coinciden con los de Romero (2008); Amerah *et al.* (2016) y Suarez (2017), quienes reportaron que los tratamientos en base maíz-soya con reducción de nutrientes e inclusión de un complejo enzimático resultaron estadísticamente iguales al control en cuanto a la ganancia de peso y peso vivo. Mientras que Cortés *et al.* (2002); Cowieson y Ravindran (2008a) y Cowieson y Ravindran (2008b) encontraron mejoras significativas en la ganancia de peso y peso vivo al adicionar un complejo enzimático sobre las dietas, demostrando un efecto positivo del uso del aditivo.

Sin embargo, Cortés *et al.* (2002) no obtuvieron una diferencia significativa en la ganancia de peso al adicionar el complejo enzimático a dietas en base a sorgo-soya sin reducción de nutrientes para pollos de engorde. Asimismo, Khoramabadi *et al.* (2014) no obtuvieron diferencia significativa en la ganancia de peso entre el tratamiento control y el tratamiento con inclusión de xilanas en dietas trigo-soya sin reducción de nutrientes.

Los resultados obtenidos en la etapa de inicio podrían deberse a la reducción de nutrientes y a la tendencia en la reducción del consumo al adicionar el complejo enzimático (Cuadro 4).

Cuadro 5. Efecto de los tratamientos sobre los parámetros productivos

| Parámetros | Tratamientos | | |
|-----------------------------------|----------------------|----------------------|----------------------|
| | T1 | T2 | T3 |
| Peso | | | |
| Peso inicial, g | 42.63 ^a | 42.60 ^a | 42.67 ^a |
| Peso a los 14 días, g | 565.42 ^a | 532.50 ^{ab} | 502.41 ^b |
| Peso a los 28 días, g | 1754.37 ^a | 1675.61 ^a | 1673.52 ^a |
| Ganancia de peso | | | |
| Ganancia de peso 1-14 días, g | 522.83 ^a | 489.90 ^{ab} | 459.73 ^b |
| Ganancia de peso 15-28 días, g | 1210.50 ^a | 1143.11 ^a | 1171.11 ^a |
| Ganancia de peso 1-28 días, g | 1711.74 ^a | 1633.01 ^a | 1630.84 ^a |
| Consumo de alimento | | | |
| Consumo de alimento 1-14 días, g | 569.10 ^a | 573.79 ^a | 553.85 ^a |
| Consumo de alimento 15-28 días, g | 1357.81 ^a | 1321.72 ^a | 1288.12 ^a |
| Consumo de alimento 1-28 días, g | 1926.91 ^a | 1895.51 ^a | 1841.97 ^a |
| Conversión alimenticia | | | |
| Conversión alimenticia 1-14 días | 1.09 ^a | 1.17 ^b | 1.20 ^b |
| Conversión alimenticia 15-28 días | 1.12 ^a | 1.16 ^a | 1.10 ^a |
| Conversión alimenticia 1-28 días | 1.13 ^a | 1.16 ^a | 1.13 ^a |

¹ **Tratamientos:** T1, dieta control; T2, dieta ajustada sin complejo enzimático (control negativo); T3, dieta con complejo enzimático.

a,b. Valores con diferente letra como superíndice difieren significativamente (P<0.05).

4.2. Consumo de alimento

Los resultados de consumo de alimento de las aves que recibieron las dietas experimentales se muestran en el Cuadro 5. El consumo de alimento de los animales que recibieron el complejo enzimático en la dieta (T3) no fue significativamente diferente (P>0.05) al consumo de alimento de los animales del control (T1) y del control negativo (T2). Sin embargo, el tratamiento T3 tuvo un valor numérico menor a los otros dos tratamientos en todas las etapas.

Estos resultados coinciden con los de Romero (2008); Amerah *et al.* (2016) y Suarez (2017), quienes reportaron que los tratamientos en base maíz-soya con reducción de nutrientes e inclusión de un complejo enzimático resultaron estadísticamente iguales al control en cuanto al consumo de alimento, con una tendencia a la reducción al adicionar el complejo enzimático.

También guardan relación con los resultados de Cowieson y Ravindran (2008a) y Khoramabadi *et al.* (2014) quienes no registraron diferencias significativas en el consumo

de alimento al adicionar el complejo enzimático sobre dietas en base a maíz-soya y trigo-soya, solo una tendencia a la reducción del consumo.

Sin embargo; Cortés *et al.* (2002) sí observaron una reducción significativa en el consumo de alimento al adicionar el complejo enzimático sobre dietas en base a maíz-soya. Estos resultados pueden deberse a que la xilanasa parece aumentar significativamente la concentración del péptido YY en suero cuando hay una reducción de energía en la dieta y se adiciona la enzima, lo que resulta en una reducción del vaciado gástrico y la tasa de tránsito intestinal (Cucho *et al.*, 2000; Singh *et al.*, 2012; Amerah *et al.*, 2016).

Los resultados contrastan con los de Cowieson y Ravindran (2008b) los cuales mostraron un aumento significativo del consumo de alimento al adicionar el complejo enzimático a la dieta sin reducción de nutrientes, explican que probablemente debido a que la gran concentración de amilasa y proteasa suplementada incrementó la tasa de pasaje a través de un mecanismo de retroalimentación del enteroglucagón o por una mejora en la digestibilidad del almidón y la proteína.

4.3. Conversión alimenticia

Los resultados de conversión alimenticia de las aves que recibieron las dietas experimentales se muestran en el Cuadro 5. Se observó una significativamente ($P < 0.05$) mejor conversión alimenticia entre el tratamiento control positivo (T1) y el resto de tratamientos (T2 y T3) en la etapa de inicio. Sin embargo, en la etapa de crecimiento y en la etapa total no se observó diferencia significativa ($P > 0.05$) entre los tratamientos.

Estos resultados coinciden con los de Romero (2008); Amerah *et al.* (2016) y Suarez (2017), quienes reportaron que los tratamientos en base maíz-soya con reducción de nutrientes e inclusión de un complejo enzimático resultaron estadísticamente iguales al control en cuanto a la conversión alimenticia.

Asimismo, Cortés *et al.* (2002); Cowieson y Ravindran (2008a); Cowieson y Ravindran (2008b) y Khoramabadi *et al.* (2014) encontraron mejoras significativas en la conversión alimenticia al adicionar un complejo enzimático sobre las dietas.

La diferencia de resultados entre las evaluaciones se puede deber al contenido de sustrato de la dieta, al pH del tracto digestivo o a la temperatura a la que ha sido sometido el alimento en el proceso de producción (Bedford y Partridge, 2010; Valdivia *et al.*, 2019).

4.4. Rendimiento de carcasa y parámetros de pechuga

Los resultados de rendimiento de carcasa y parámetros de pechuga de las aves que recibieron las dietas experimentales se muestran en el Cuadro 6. El resultado de rendimiento de carcasa de las aves del tratamiento control (T1) y el resto de tratamientos (T2 y T3) no presentaron diferencia significativa ($P>0.05$).

Cuadro 6. Efecto de los tratamientos sobre el rendimiento de carcasa y los parámetros de pechuga

| Parámetros | Tratamientos | | |
|----------------------------|---------------------|---------------------|---------------------|
| | T1 | T2 | T3 |
| Rendimiento de carcasa, % | 72.35 ^a | 71.69 ^a | 69.78 ^a |
| Profundidad de pechuga, mm | 28.36 ^a | 29.21 ^a | 27.74 ^a |
| Largo de pechuga, cm | 15.10 ^a | 15.37 ^a | 15.23 ^a |
| Ancho de pechuga, cm | 11.03 ^a | 11.20 ^a | 10.82 ^a |
| Peso de pechuga, gr | 431.70 ^a | 437.80 ^a | 379.60 ^a |
| Rendimiento de pechuga, % | 25.76 ^a | 25.21 ^a | 24.49 ^a |

¹**Tratamientos:** T1, dieta control; T2, dieta ajustada sin complejo enzimático (control negativo); T3, dieta con complejo enzimático.

a. Valores con igual letra como superíndice no difieren significativamente ($P>0.05$).

Los resultados de Romero (2008) y Amerah *et al.* (2016) son similares a los de esta evaluación, pues no obtuvieron diferencia significativa en cuanto al rendimiento de carcasa y peso de pechuga entre el tratamiento control y los tratamientos con inclusión de complejo enzimático en dietas con reducción de nutrientes. Sin embargo; difieren de los obtenidos por la evaluación de Suarez (2017) en la cual los tratamientos con inclusión del complejo enzimático en dietas con reducción de nutrientes superaron significativamente al control en cuanto al rendimiento de carcasa.

En tanto, Cortés *et al.* (2002) no observaron diferencias significativas en el rendimiento de pechuga, al adicionar el complejo enzimático sobre la dieta. Esto puede deberse a que no hubo diferencia significativa en el peso vivo al final de las evaluaciones. Sin embargo; Ordoñez (2018) y Souza (2015), encontraron que los tratamientos con inclusión del complejo enzimático sobre las dietas superaron significativamente al control en cuanto al rendimiento de carcasa.

4.5. Morfometría intestinal

Los resultados de la evaluación de morfometría intestinal a las vellosidades del yeyuno de las aves que recibieron las dietas experimentales se muestran en el Cuadro 7. Los cuales no presentaron diferencia significativa entre sí ($P>0.05$); sin embargo, se presentaron diferencias numéricas. En cuanto al índice intestinal, el tratamiento con inclusión del complejo enzimático (T3) presentó un mayor valor numérico en comparación al resto de los tratamientos, esto debido a que el largo de vellosidad fue numéricamente mayor y la profundidad de cripta numéricamente menor que el de los demás tratamientos. El área de vellosidad del tratamiento con inclusión del complejo enzimático (T3) tiene un valor numérico intermedio entre los demás tratamientos; no obstante, el largo de vellosidad es numéricamente superior y el ancho de vellosidad numéricamente inferior al del resto de tratamientos.

Cuadro 7. Efecto de los tratamientos sobre la morfometría intestinal

| Parámetros | Tratamientos | | |
|--------------------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
| | T1 | T2 | T3 |
| Largo de vellosidad, μm | 1156.58 ^a | 1038.32 ^a | 1177.15 ^a |
| Ancho de vellosidad, μm | 113.31 ^a | 110.25 ^a | 105.15 ^a |
| Área de vellosidad, μm^2 | 134,816.69 ^a | 104,273.21 ^a | 115,069.04 ^a |
| Profundidad de cripta, μm | 180.73 ^a | 147.69 ^a | 139.79 ^a |
| Índice intestinal | 7.37 ^a | 7.85 ^a | 9.05 ^a |

¹**Tratamientos:** T1, dieta control; T2, dieta ajustada sin complejo enzimático (control negativo); T3, dieta con complejo enzimático.

a. Valores con igual letra como superíndice no difieren significativamente ($P>0.05$).

Estos resultados son similares a los obtenidos por Khoramabadi *et al.* (2014) y Souza (2015) debido a que no hubo diferencia significativa a los 21 días entre los tratamientos sin inclusión de xilanas y los tratamientos con inclusión de xilanas sobre las dietas en cuanto a los parámetros de altura de vellosidad intestinal, profundidad de cripta y relación altura de vellosidad/profundidad de cripta. Mientras que, Ordoñez (2018) no obtuvo diferencias significativas entre la altura de vellosidad a los 21 y 42 días de edad de los pollos y tampoco en la relación de altura de vellosidad/profundidad de cripta a los 42 días, entre los tratamientos sin enzimas y los tratamientos con inclusión de enzimas sobre la dieta.

Sin embargo; difieren de los de Gómez y Roa (2011) quienes observaron un aumento significativo del área, largo y ancho de las vellosidades del duodeno al adicionar un complejo enzimático en dietas sin reducción de nutrientes y a los de Souza (2015) quien a los 44 días observó una reducción significativa en la altura de vellosidad y profundidad de cripta, además de un aumento significativo en la relación de largo de vellosidad y profundidad de cripta. En tanto Ordoñez (2018) también obtuvo diferencias significativas, a los 21 días las aves a cuyas dietas se les incluyó enzimas tuvieron profundidad de cripta reducida y una mejor relación altura de vellosidad/profundidad de cripta con respecto al control, mientras que a los 42 días tuvieron una profundidad de cripta aumentada.

4.6. Retribución económica

La retribución económica para cada tratamiento se observa en el Cuadro 8 y los precios tomados en cuenta para los insumos alimenticios se muestran en el Anexo 1. El tratamiento con inclusión de complejo enzimático (T3) mostró mayor retribución económica por pollo vivo comparado con los otros tratamientos (T1 y T2), esto se debe al menor costo de las dietas por el reemplazo del complejo enzimático en cambio del aceite y a un numéricamente menor consumo de alimento de las aves a las que se les ofreció la dieta con inclusión del complejo enzimático (T3). La menor retribución económica por pollo vivo se dio en el tratamiento control negativo (T2).

En cuanto a la retribución económica relativa, se tomó en cuenta al tratamiento control (T1) como el 100 % y se obtuvo que en el tratamiento con inclusión del complejo enzimático (T3) fue 100.69 %, es decir, el uso del aditivo mejoró en 0.69 % la retribución económica por pollo producido.

Cuadro 8. Retribución económica de los tratamientos a los 28 días

| Rubro | Tratamientos | | |
|--|--------------|-------|--------|
| | T1 | T2 | T3 |
| Peso vivo a los 28 días (Kg) | 1.75 | 1.68 | 1.67 |
| Precio pollo vivo (S/ x Kg) | 6.10 | 6.10 | 6.10 |
| Total de ingresos (S/) | 10.70 | 10.22 | 10.21 |
| Consumo de alimento en el inicio (Kg/pollo) | 0.57 | 0.57 | 0.55 |
| Costo de alimento (S/ x Kg) | 2.75 | 2.58 | 2.59 |
| Consumo de alimento en el crecimiento (Kg/pollo) | 1.36 | 1.32 | 1.29 |
| Costo de alimento (S/ x Kg) | 2.76 | 2.59 | 2.60 |
| Costo de alimentación (S/) | 5.31 | 4.90 | 4.78 |
| Retribución económica por pollo vivo (S/) | 5.39 | 5.32 | 5.43 |
| Retribución económica relativa (%) | 100.00 | 98.71 | 100.69 |

¹Tratamientos: T1, dieta control; T2, dieta ajustada sin complejo enzimático (control negativo); T3, dieta con complejo enzimático.

IV. CONCLUSIONES

Bajo las condiciones en las que se llevó a cabo el presente trabajo de investigación y de acuerdo a los resultados obtenidos se concluye que:

1. Durante la etapa de inicio, el tratamiento control superó significativamente al tratamiento con reducción de nutrientes e inclusión de enzimas en los parámetros de ganancia de peso y conversión alimenticia.
2. Durante la etapa de crecimiento y la etapa completa, la inclusión del complejo enzimático (xilanasa, amilasa y proteasa) en reemplazo de un porcentaje de energía y proteína no mejoró significativamente los parámetros productivos, el rendimiento de carcasa ni la morfometría intestinal con respecto al control positivo ni el negativo.
3. El tratamiento con inclusión del complejo enzimático generó una ligeramente mayor retribución económica con respecto a los demás tratamientos.

V. RECOMENDACIONES

Bajo las condiciones en las que se llevó a cabo el presente trabajo de investigación y de acuerdo a los resultados obtenidos se recomienda:

1. Evaluar el uso del complejo enzimático hasta los 42 días.
2. Evaluar el uso del complejo enzimático on top.

VI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aehle, W. (2007). *Enzymes in industry* (3° ed.). Weinheim, Alemania: Wiley-VCH
- Ahern, K. (2019). *Biochemistry and molecular biology: how life works*. Virginia, Estados Unidos de América: The great Courses
- Akers, R., y Denbow, D. (2013). *Anatomy and physiology of domestic animals* (2° ed.). Iowa, Estados Unidos de América: Wiley Blackwell
- Amerah, A.M., Gilbert, C., Simmins, P.H., y Ravindran, V. (marzo, 2011). Influence of feed processing on the efficacy of exogenous enzymes in broiler diets. *World's Poultry Science Journal* 67, 29-46. doi: 10.1017/S0043933911000031
- Amerah, A.M., Romero, L.F., Awati, A, y Ravindran, V. (julio, 2016). Effect of exogenous xylanase, amylase and protease as single or combined activities on nutrient digestibility and growth performance of broilers fed corn/soy diets. *Poultry Science* 0, 1-10. doi: 10.3382/ps/pew297
- Angel, R., Kim, S., Li, W., y Jimenez-Moreno, E. (noviembre, 2013). Velocidad de paso y pH en aves: implicaciones para la digestión y el uso de enzimas. *XXIX Curso de especialización FEDNA*. Recuperado de http://www.produccion-animal.com.ar/produccion_aves/produccion_avicola/05-13CAP_VIIItrad.pdf
- Ao T., Cantor, A., y Pierce, J. (2008). In vitro evaluation of feed-grade enzyme activity at pH levels simulating various parts of the avian digestive tract. *Animal Feed Science and Technology* 140, 462-468. doi: doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2007.04.004
- Aspinall, V., y Cappello, M. (2020). *Animal and veterinary anatomy and physiology* (4° ed.). Oxfordshire, Reino Unido: CABI
- Bajpai, P. (2018). *Industrial enzyme an update*. Patiala, India: Bookboon The eBook Company.

- Bedford, M., y Partridge, G. (2010). *Enzymes in farm animal nutrition* (2° ed.). Oxfordshire, United Kingdom: CAB International
- Berg, J., Tymoczko, J., Gatto, y G. Stryer, L. (2015). *Biochemistry* (8° ed.). Nueva York, Estados Unidos de América: Macmillan
- Brahmachari, G., Demain, A., y Adrio, J. (2017). *Biotechnology of microbial enzymes*. London, United Kingdom: Elsevier
- Boticario, C., y Cascales, M. (2012). *Digestión y metabolismo energético de los nutrientes*. Plasencia, España: UNED Centro de Plasencia
- Büler, M., Limper, J., Müller, A., Schwarz, G., Simon, O., Sommer, M., y Spring, W. (1998). *Las enzimas en la nutrición animal*. St. Bonn, Alemania. Wirkstoffe.
- Cortés, A., Águila, R., y Ávila, E. (2002). La utilización de enzimas como aditivos en dietas para pollos de engorda. *Veterinaria México* 33(1), 1-9. doi: <https://www.redalyc.org/pdf/423/42333101.pdf>
- Cowieson, A. (2005). Factors that affect the nutritional value of maize for broilers. *Animal Feed Science and Technology* 119(4), 293-305. doi:10.1016/j.anifeedsci.2004.12.017
- Cowieson, A., Hruby, M., y Pierson, M. (2006). Evolving enzyme technology: impact in commercial poultry nutrition. *Nutrition Research Reviews* 19, 90-113. doi: 10.1079/NRR2006121
- Cowieson, A.J., y Ravindran, V. (enero, 2008a). Effect of exogenous enzymes in maize-based diets varying in nutrient density for young broilers: growth performance and digestibility of energy, minerals and amino acids. *British Poultry Science* 49(1) 37-44. doi: 10.1080/00071660701812989
- Cowieson, A.J., y Ravindran, V. (enero, 2008b). Sensitivity of broiler starters to three doses of an enzyme cocktail in maize-based diets. *British Poultry Science* 49(3), 340-346. doi: 10.1080/00071660802126669
- Cowieson, A., Vieira, S., y Stefanello, C. (2018). Exogenous microbial amylase in the diets of poultry: what do we know?. *Journal of Applied Poultry Research* 28(3), 556-565. doi: <https://doi.org/10.3382/japr/pfy044>
- Cuche, G., Cuber, J.C. y Malbert, H. (mayo, 2000). Ileal short-chain fatty acids inhibit gastric motility by a humoral pathway. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology* 279, 925 -930. doi: 10.1152/ajpgi.2000.279.5.G925

- Danisco Animal Nutrition. (2014). *Axtra® XAP: The ultimate solution for flexible poultry diet formulation*. Recuperado de http://animalnutrition.dupont.com/fileadmin/user_upload/live/animal_nutrition/documents/open/Feed_-enzyme-carbohydase-protease-_Axtra-XAP-TPT-Danisco-Animal_Nutrition.pdf
- Dee Fails, A., y Magee, C. (2018). *Anatomy and physiology of farm animals* (8° ed.). Nueva Jersey, Estados Unidos de América: Wiley Blackwell
- Díaz, B. (2004). *Uso de fitasa y de un complejo enzimático a base de xilanasa, α -amilasa y proteasa sobre variables productivas y digestibilidad de calcio y fósforo en gallinas comerciales* (Tesis para optar el título profesional de Médico Veterinario, Universidad de Chile). Recuperada de <http://repositorio.uchile.cl/handle/2250/130783>
- Doskovic, V., Bogosavljevic-Boskovic, S., Pavlovski, Z., Milosevic, B., Skrbic, Z., Rakonjac, S., y Petricevic, V. (junio, 2013). Enzymes in broiler diets with special reference to protease. *World's Poultry Science Journal* 69(2), 343-360. doi: 10.1017/S0043933913000342
- Feduchi, E., Blasco, I., Romero, C., y Yáñez, E. (2014). *Bioquímica: conceptos esenciales*. Madrid, España: Editorial Médica Panamericana
- Ferrier, D. (2017). *Biochemistry* (7° ed.). Pensilvania, Estados Unidos de América: Wolters Kluwer
- Frandson, R., Lee, W., y Dee, A. (2009). *Anatomy and Physiology of Farm Animals* (7° ed.). Iowa, Estados Unidos de América: Wiley-Blackwell
- García, P., y López, G. (mayo, 2007). Evaluación de la absorción y metabolismo intestinal. *Nutrición Hospitalaria* 22(2), 5-13. Recuperado de <http://scielo.isciii.es/pdf/nh/v22s2/fisiologia1.pdf>
- Gomez, D., y Roa D. (2011). *Efecto de la inclusión de ALLZYME® SSF en la dieta de pollos de engorde de la línea ROSS 308 sobre los parámetros productivos* (Tesis para optar el título profesional de Ingeniero Zootecnista, Universidad de la Salle). Recuperado de <https://ciencia.lasalle.edu.co/cgi/viewcontent.cgi?article=1150&context=zootecnia>
- Harvey, R., y Ferrier, D. (2012). *Bioquímica ilustrada* (5° ed.). São Paulo, Brasil: Artmed

- Jimenez-Moreno, E., Gonzalez-Alvarado, J.M., Lazaro, R. y Mateos, G.G. (2009) Effects of type of cereal, heat processing of the cereal, and fiber inclusion in the diet on gizzard pH and nutrient utilization in broilers at different ages. *Poultry Science* 88 (9), 1925–1933. doi: doi.org/10.3382/ps.2009-00193
- Khoramabadi, V., Reza Akbari, M., Khajali, F., Noorani, H y Rahmatnejad, E. (octubre, 2014). Influence of xylanase and vitamin A in wheat-based diet on performance, nutrients digestibility, small intestinal morphology and digesta viscosity in broiler chickens. *Acta Scientiarum* 36(4), 379-384. doi: 10.4025/actascianimsci.v36i4.23910
- Lamby, C., Gómez, O., y Jaramillo, L. (junio, 2013). La a-amilasa salival: relación con la caries dental y la salud en general. *Revista Javeriana* 32(69), 93-101. Recuperado de <https://www.redalyc.org/pdf/2312/231240434008.pdf>.
- Lundblad, R. y Macdonald, F. (2018). *Handbook of biochemistry and molecular biology* (5° ed.). Florida, Estados Unidos de América: CRC Press
- Martínez-Alesón Sanz, R., Korsbak, A., Brugger, R., y Pontoppidan, K. (noviembre, 2010). Proteasas para la alimentación de las aves. *Selecciones avícolas* 52(11), 37-39. Recuperado de <https://seleccionesavicolas.com/pdf-files/2010/11/5632-proteasas-para-alimentacion-de-las-aves.pdf>
- Matos, M., Portilla, Y., Valdivia, A., Ramírez, H., Rubio, Y., y Rodriguez, Z. (abril, 2015). Producción de Xilanasas en *Bacillus* sp. *VII Convención científica internacional de la universidad de Matanzas, Cuba*.
- McDonald, P., Edwards, R., Greenhalgh, J., Morgan, C., Sinclair, L., y Wilkinson, R. *Animal Nutrition*. (7° ed.). Harlow, Inglaterra: Pearson Prentic Hall.
- McKee, T., y McKee, J. (2014). *Bioquímica: las bases moleculares de la vida* (4° ed.). Ciudad de México, México: Mc Graw Hill.
- Melgar, R., Vitti, G., y De Melo Benites, V. (2011). Fertilizando para altos rendimiento: soja en Latinoamérica. *Instituto Internacional de la Potasa*. doi: 10.3235/978-3-9523243-7-0
- MINAGRI. (16 de abril de 2015). Ficha técnica de maíz [Página web oficial]. Recuperado de <http://minagri.gob.pe/portal/30-sector-agrario/maiz/250-maiz?start=2>

- Murray, R., Bender, D., Botham, K., Kennelly, P., Rodwell, V., y Weil, P. (2013). *Harper: Bioquímica ilustrada* (29° ed.). Ciudad de México, México: Mc Graw Hill.
- National Research Council (1994). *Nutrient Requirements of Poultry* (9° ed.). Washington DC, Estados Unidos de América: The National Academies Press.
- Nelson, D. y Cox, M. (2017). *Lehninger principles of biochemistry* (7° ed.). Nueva York, Estados Unidos de América: Macmillan Learning
- Nikam, M., Reddy, V., Raju, M., Reddy, K., y Narasimha, J. (2017). Effect of dietary supplementation of non starch polysaccharide hydrolyzing enzymes on performance of broilers fed diets based on guar meal, rape seed meal and cotton seed meal. *International Journal of Livestock Research*, 7(2), 180-190. Recuperado de doi:10.5455/ijlr.20170209070638
- Ordoñez, E. (2018). *Influencia de suplementación alimenticia con orégano (Origanum vulgare) y complejos enzimáticos en los índices productivos y salud intestinal de pollos de engorde* (Tesis para optar el título de Maestro en Producción animal, Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas). Recuperado de <https://repositorio.untrm.edu.pe/bitstream/handle/20.500.14077/1651/Ordo%c3%b1ez%20Rumiche%20Edson%20Miguel.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Parameswaran, B., Varjani, S., y Raveendran, S. (2019). *Green bio-processes: enzymes in industrial food processing*. Singapur, Singapur: Springer
- Polaina, J., y MacCabe, A. (2008). *Industrial enzymes: structure, function and applications*. Dordrecht, Países Bajos: Springer
- Punekar, N. (2018). *Enzymes: catalysis, kinetics and mechanisms*. Singapur, República de Singapur: Springer
- Ravindran, V. (2010). Aditivos en la alimentación animal: presente y futuro. *XXVI Curso de Especialización FEDNA: Avances en Nutrición y Alimentación Animal*, 3-26. Recuperado de http://fundacionfedna.org/sites/default/files/10CAP_I.pdf
- Reece, W., Erickson, H., Goff, J., y Uemura, E. (2015). *Duke's physiology of domestic animals* (13° ed.). Nueva York, Estados Unidos de América: Wiley Blackwell
- Reece, W., y Rowe, E. (2017). *Functional anatomy and physiology of domestic animals* (5° ed.). Nueva Jersey, Estados Unidos de América: Wiley Blackwell

- Rodwell, V., Bender, D., Botham, K., Kenelly, P., y Weil, P. (2015). *Harper: bioquímica ilustrada* (30° ed.). Ciudad de México, México: Mc Graw Hill.
- Rojo-Rubio, R., Mendoza-Martínez, G., y Crosby-Galván, M. (julio, 2001). Uso de la amilasa termoestable de *Bacillus licheniformis* en la digestibilidad *in vitro* del almidón de sorgo y maíz. *Agrociencia* 35 (4), 423-427. Recuperado de <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=30235406>
- Romero, A. (2008). *Evaluación de distintas relaciones de energía y proteína con la adición de un complejo enzimático proteasa 8000 UI/g, xilanasa 600UI/g y amilasa 800U I/g como complemento de la ración en la alimentación de pollos broilers* (Tesis de pregrado, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo). Recuperado de <http://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/1660>
- Salazar-Acosta, E. (2019). Almidón resistente en la nutrición de animales monogástricos I: concepto, clasificación y fuentes. *Nutrición animal tropical* 12(2):55-69. doi: 10.15517/nat.v12i2.35493
- Shewry, P y Ward, J. (2009). Analysis of bioactive components in small grain cereals. Minesota, United States of America: AACC international
- Segura-Campos, M., Chel-Guerrero, L., y Betancur-Ancona, D. (septiembre, 2010). Efecto de la digestión en la biodisponibilidad de péptidos con actividad biológica. *Revista Chilena de Nutrición* 37(3), 386-391. doi: 10.4067/S0717-75182010000300014
- Singh, A., Masey O'Neill, H.V., Ghosh, T.K., Bedford M.R., y Haldar, S. (agosto, 2012). Effects of xylanase supplementation on performance, total volatile fatty acids and selected bacterial population in caeca, metabolic indices and peptide YY concentrations in serum of broiler chickens fed energy restricted maize-soybean based diets. *Animal Feed Science and Technology* 177, 194 - 203. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2012.08.005>
- Simões, C., y Kumar, V. (2018). *Enzymes in human and animal nutrition principles and perspective*. London, United Kingdom: Elsevier
- Souza, G. (2015). *Adição de xilanase com diferentes níveis de energia metabolizável em rações para frangos de corte* (Tesis de posgrado, Universidade Federal da Paraíba Centro de Ciências Agrárias). Recuperado de: <https://repositorio.ufpb.br/jspui/handle/123456789/15912>

- Suarez, L. (2017). *Evaluación de la inclusión de multienzimas en dietas para pollos parrilleros* (Tesis de pregrado, Universidad Nacional Agraria de la Selva). Recuperado de <http://repositorio.unas.edu.pe/handle/UNAS/1390>
- Sumano, H., y Gutiérrez, L. (2010). *Farmacología clínica en aves comerciales* (4° ed.). Ciudad de México, México: Mc Graw Hill.
- Susuki, H. (2015). *How enzymes work: from structure to function*. San Francisco, Estados Unidos de América: Pan Stanford Publishing
- Valdivia, A., Matos, M., Rodríguez, Z., Pérez, Y., Rubio, Y., y Vega, J. (octubre, 2019). Los aditivos enzimáticos, su aplicación en la crianza animal. *Cuban journal of agriculture science* 53(4), 341-352. Recuperado de <http://scielo.sld.cu/pdf/cjas/v53n4/2079-3480-cjas-53-04-341.pdf>
- Vandeplas, S., y Bodin, J. (noviembre, 2012). Acción de una xilanasas producida por *Bacillus subtilis*: efectos sobre la flora intestinal y el estado sanitario en las aves. *Selecciones avícolas* 54(11), 19-22. Recuperado de <https://seleccionesavicolas.com/pdf-files/2012/11/6995-accion-de-una-xilanasas-producida-por-bacillus-subtilis.-efectos-sobre-la-flora-intestinal-y-el-estado-sanitario-en-las-aves.pdf>
- Vásconez, C., Filian, W., Tovar, J., Zambrano, R., y Molina, P. (octubre, 2020). Complejos enzimáticos como suplemento en la alimentación de pollos de engorde. *Journal of science and research* 5(4), 17-28. doi: 10.5281/zenodo.4118707
- Vogel, A., y May, O. (2019). *Industrial enzyme applications*. Weinheim, Alemania: Wiley-VCH
- Wu, G. (2018). *Principles of animal nutrition*. Florida, Estados Unidos de América: CRC Press.

VII. ANEXOS

Anexo 1. Costo (S/ x Kg) de los ingredientes utilizados en la evaluación para mayo del 2022

| Ingredientes | Costo (S/ x Kg) |
|----------------------------|-----------------|
| Maíz | 1.38 |
| Torta de soya (46% Pt) | 2.10 |
| Aceite vegetal | 5.53 |
| Carbonato de calcio | 0.17 |
| Fosfato dicálcico | 2.40 |
| Sal | 0.86 |
| Bicarbonato de sodio | 2.54 |
| DL-metionina | 10.78 |
| Lisina-HCl | 6.23 |
| L-treonina | 5.52 |
| Premezcla vitamínica | 26.99 |
| Fitasa | 53.00 |
| Micosecuestante | 30.36 |
| Enramicina 8 % | 64.25 |
| Anticoccidial | 48.68 |
| Cloruro de colina 60 % | 3.18 |
| Clorquinol 60 % | 37.26 |
| Complejo enzimático | 23.68 |

Anexo 2. Registro de peso vivo (gr) por semana para cada tratamiento con sus respectivas repeticiones

| Tratamiento | Repeticón | Semana | | | | |
|-----------------|-----------|--------------|------------------|-----------------|------------------|-----------------|
| | | Inicio | 1 ^{era} | 2 ^{da} | 3 ^{era} | 4 ^{ta} |
| T1 | 1 | 42.92 | 206.64 | 602.24 | 1100.88 | 1828.52 |
| | 2 | 42.48 | 205.84 | 576.88 | 1103.24 | 1797.40 |
| | 3 | 42.80 | 184.32 | 529.96 | 1026.48 | 1723.32 |
| | 4 | 42.56 | 208.64 | 578.24 | 1118.47 | 1800.20 |
| | 5 | 42.40 | 195.93 | 540.00 | 969.70 | 1622.40 |
| Promedio | | 42.63 | 200.27 | 565.46 | 1063.75 | 1754.37 |
| T2 | 1 | 42.96 | 138.88 | 502.88 | 946.40 | 1567.28 |
| | 2 | 41.73 | 196.57 | 560.90 | 1032.42 | 1712.00 |
| | 3 | 42.80 | 203.00 | 527.30 | 1073.70 | 1750.75 |
| | 4 | 42.60 | 206.98 | 549.72 | 1056.08 | 1682.34 |
| | 5 | 42.92 | 197.04 | 521.72 | 1018.96 | 1665.68 |
| Promedio | | 42.60 | 197.49 | 532.50 | 1025.51 | 1675.61 |
| T3 | 1 | 42.68 | 184.48 | 506.60 | 1012.28 | 1685.80 |
| | 2 | 42.48 | 181.34 | 469.67 | 882.75 | 1655.10 |
| | 3 | 42.80 | 183.28 | 539.44 | 1026.68 | 1674.20 |
| | 4 | 42.67 | 174.68 | 493.40 | 957.80 | 1656.80 |
| | 5 | 42.74 | 187.64 | 502.92 | 992.20 | 1695.68 |
| Promedio | | 42.67 | 182.28 | 502.41 | 974.34 | 1673.52 |

¹Tratamientos: T1, dieta control; T2, dieta ajustada sin complejo enzimático (control negativo); T3, dieta con complejo enzimático.

Anexo 3. Registro de ganancia de peso acumulada (gr) por semana para cada tratamiento con sus respectivas repeticiones

| Tratamiento | Repetición | Semana | | | |
|-----------------|------------|------------------|-----------------|------------------|-----------------|
| | | 1 ^{era} | 2 ^{da} | 3 ^{era} | 4 ^{ta} |
| T1 | 1 | 163.72 | 559.32 | 1057.96 | 1785.60 |
| | 2 | 163.36 | 534.40 | 1060.76 | 1754.92 |
| | 3 | 141.52 | 487.16 | 983.68 | 1680.52 |
| | 4 | 166.08 | 535.68 | 1075.91 | 1757.64 |
| | 5 | 153.53 | 497.60 | 927.30 | 1580.00 |
| Promedio | | 157.64 | 522.83 | 1021.12 | 1711.74 |
| T2 | 1 | 140.92 | 459.92 | 903.44 | 1524.32 |
| | 2 | 154.83 | 519.17 | 990.68 | 1670.27 |
| | 3 | 160.20 | 484.50 | 1030.90 | 1707.95 |
| | 4 | 164.38 | 507.12 | 1013.48 | 1639.74 |
| | 5 | 154.12 | 478.80 | 976.04 | 1622.76 |
| Promedio | | 154.89 | 489.90 | 982.91 | 1633.01 |
| T3 | 1 | 141.80 | 463.92 | 969.60 | 1643.12 |
| | 2 | 138.86 | 427.19 | 840.27 | 1612.62 |
| | 3 | 140.48 | 496.64 | 983.88 | 1631.40 |
| | 4 | 132.01 | 450.73 | 915.13 | 1614.13 |
| | 5 | 144.90 | 460.18 | 949.46 | 1652.94 |
| Promedio | | 139.61 | 459.73 | 931.67 | 1630.84 |

¹Tratamientos: T1, dieta control; T2, dieta ajustada sin complejo enzimático (control negativo); T3, dieta con complejo enzimático.

Anexo 4. Registro de consumo acumulado (gr) por semana para cada tratamiento con sus respectivas repeticiones

| Tratamiento | Repetición | Semana | | | |
|-----------------|------------|------------------|-----------------|------------------|-----------------|
| | | 1 ^{era} | 2 ^{da} | 3 ^{era} | 4 ^{ta} |
| T1 | 1 | 177.24 | 605.28 | 1210.80 | 2019.56 |
| | 2 | 186.84 | 526.12 | 1128.56 | 1921.64 |
| | 3 | 162.72 | 542.16 | 1108.52 | 1880.84 |
| | 4 | 181.92 | 597.32 | 1221.55 | 2026.67 |
| | 5 | 155.43 | 574.62 | 1106.89 | 1785.82 |
| Promedio | | 172.83 | 569.10 | 1155.26 | 1926.91 |
| T2 | 1 | 148.80 | 519.76 | 1038.96 | 1730.04 |
| | 2 | 172.47 | 591.77 | 1104.90 | 1899.87 |
| | 3 | 174.04 | 584.44 | 1150.94 | 1893.34 |
| | 4 | 199.20 | 614.20 | 1208.36 | 1985.04 |
| | 5 | 174.08 | 558.80 | 1129.28 | 1969.28 |
| Promedio | | 173.72 | 573.79 | 1126.49 | 1895.51 |
| T3 | 1 | 172.32 | 555.60 | 1109.64 | 1837.32 |
| | 2 | 171.83 | 504.71 | 986.71 | 1764.76 |
| | 3 | 179.80 | 603.64 | 1171.88 | 1876.20 |
| | 4 | 165.74 | 552.00 | 1091.56 | 1874.81 |
| | 5 | 169.44 | 553.28 | 1093.28 | 1856.76 |
| Promedio | | 171.83 | 553.85 | 1090.61 | 1841.97 |

¹Tratamientos: T1, dieta control; T2, dieta ajustada sin complejo enzimático (control negativo); T3, dieta con complejo enzimático.

Anexo 5. Registro de conversión alimenticia acumulada por semana para cada tratamiento con sus respectivas repeticiones

| Tratamiento | Repetición | Semana | | | |
|-----------------|------------|------------------|-----------------|------------------|-----------------|
| | | 1 ^{era} | 2 ^{da} | 3 ^{era} | 4 ^{ta} |
| T1 | 1 | 1.08 | 1.08 | 1.14 | 1.13 |
| | 2 | 1.14 | 0.98 | 1.06 | 1.10 |
| | 3 | 1.15 | 1.11 | 1.13 | 1.12 |
| | 4 | 1.10 | 1.12 | 1.14 | 1.15 |
| | 5 | 1.01 | 1.15 | 1.19 | 1.13 |
| Promedio | | 1.10 | 1.09 | 1.13 | 1.13 |
| T2 | 1 | 1.06 | 1.13 | 1.15 | 1.13 |
| | 2 | 1.11 | 1.14 | 1.12 | 1.14 |
| | 3 | 1.09 | 1.21 | 1.12 | 1.11 |
| | 4 | 1.21 | 1.21 | 1.19 | 1.21 |
| | 5 | 1.13 | 1.17 | 1.16 | 1.21 |
| Promedio | | 1.12 | 1.17 | 1.15 | 1.16 |
| T3 | 1 | 1.22 | 1.20 | 1.14 | 1.12 |
| | 2 | 1.24 | 1.18 | 1.17 | 1.09 |
| | 3 | 1.28 | 1.22 | 1.19 | 1.15 |
| | 4 | 1.26 | 1.22 | 1.19 | 1.16 |
| | 5 | 1.17 | 1.20 | 1.15 | 1.12 |
| Promedio | | 1.23 | 1.20 | 1.17 | 1.13 |

¹Tratamientos: T1, dieta control; T2, dieta ajustada sin complejo enzimático (control negativo); T3, dieta con complejo enzimático.

Anexo 6. Registro de parámetros de pechuga para cada tratamiento con sus respectivas repeticiones

| Tratamiento | Repetición | Rendimiento de carcasa (%) | Pechuga | | | | |
|-----------------|------------|----------------------------|------------------|--------------|--------------|---------------|-----------------|
| | | | Profundidad (mm) | Largo (cm) | Ancho (cm) | Peso (gr) | Rendimiento (%) |
| T1 | 1 | 71.35 | 26.47 | 15.20 | 11.42 | 427.00 | 24.98 |
| | 2 | 74.30 | 26.67 | 15.00 | 11.22 | 419.00 | 25.71 |
| | 3 | 71.16 | 27.17 | 15.10 | 10.58 | 383.00 | 24.20 |
| | 4 | 73.86 | 30.56 | 15.05 | 10.62 | 463.00 | 26.72 |
| | 5 | 71.07 | 30.96 | 15.15 | 11.34 | 466.50 | 27.22 |
| Promedio | | 72.35 | 28.36 | 15.10 | 11.03 | 431.70 | 25.76 |
| T2 | 1 | 72.41 | 29.48 | 14.80 | 10.21 | 343.50 | 22.91 |
| | 2 | 74.03 | 27.48 | 15.40 | 11.06 | 402.00 | 24.55 |
| | 3 | 69.65 | 27.22 | 15.30 | 12.07 | 491.50 | 26.09 |
| | 4 | 71.88 | 32.27 | 15.55 | 11.82 | 529.00 | 26.68 |
| | 5 | 70.47 | 29.63 | 15.80 | 10.82 | 423.00 | 25.81 |
| Promedio | | 71.69 | 29.21 | 15.37 | 11.20 | 437.80 | 25.21 |
| T3 | 1 | 69.27 | 26.29 | 14.90 | 10.77 | 350.00 | 24.35 |
| | 2 | 70.41 | 26.42 | 15.30 | 10.13 | 341.50 | 25.86 |
| | 3 | 68.07 | 29.02 | 16.00 | 12.04 | 485.00 | 24.33 |
| | 4 | 69.78 | 28.78 | 15.50 | 10.52 | 384.00 | 24.94 |
| | 5 | 71.36 | 28.22 | 14.45 | 10.66 | 337.50 | 22.96 |
| Promedio | | 69.78 | 27.74 | 15.23 | 10.82 | 379.60 | 24.49 |

¹Tratamientos: T1, dieta control; T2, dieta ajustada sin complejo enzimático (control negativo); T3, dieta con complejo enzimático.

Anexo 7. Registro de morfometría intestinal para cada tratamiento con sus respectivas repeticiones

| Tratamiento | Repetición | Vellosidad | | | Profundidad de cripta (µm) | Índice intestinal |
|-----------------|------------|-----------------|----------------|-------------------------|----------------------------|-------------------|
| | | Largo (µm) | Ancho (µm) | Área (µm ²) | | |
| T1 | 1 | 1085.332 | 116.241 | 106966.081 | 139.391 | 8.100 |
| | 2 | 1277.901 | 94.880 | 143457.891 | 138.091 | 10.210 |
| | 3 | 1173.187 | 99.891 | 102348.426 | 173.282 | 6.956 |
| | 4 | 1101.127 | 136.478 | 131033.261 | 165.375 | 7.432 |
| | 5 | 1145.345 | 119.075 | 190277.789 | 275.738 | 4.285 |
| Promedio | | 1156.578 | 113.313 | 134816.690 | 178.375 | 7.397 |
| T2 | 1 | 1066.791 | 118.828 | 124362.511 | 132.461 | 8.336 |
| | 2 | 1274.006 | 69.571 | 94838.752 | 113.901 | 11.596 |
| | 3 | 1077.815 | 132.128 | 125892.020 | 131.333 | 8.627 |
| | 4 | 945.322 | 99.984 | 85465.146 | 146.873 | 6.655 |
| | 5 | 827.655 | 130.740 | 90807.634 | 213.894 | 4.017 |
| Promedio | | 1038.318 | 110.250 | 104273.213 | 147.693 | 7.846 |
| T3 | 1 | 1048.664 | 121.121 | 108328.671 | 175.873 | 6.201 |
| | 2 | 1064.274 | 84.945 | 88311.325 | 136.041 | 8.069 |
| | 3 | 1245.193 | 101.767 | 125432.728 | 104.226 | 12.376 |
| | 4 | 1176.280 | 111.404 | 121140.825 | 144.070 | 8.504 |
| | 5 | 1351.333 | 106.534 | 132131.676 | 138.716 | 10.118 |
| Promedio | | 1177.149 | 105.154 | 115069.045 | 139.785 | 9.053 |

¹Tratamientos: T1, dieta control; T2, dieta ajustada sin complejo enzimático (control negativo); T3, dieta con complejo enzimático.