

Efecto de VPro sobre el crecimiento y la salud intestinal del lechón recién destetado

Resumen: El experimento se realizó para estudiar los efectos de la proteasa sobre el crecimiento y la salud intestinal de lechones recién destetados.

Para el ensayo se seleccionaron 150 lechones destetados híbridos de tres razas (Duroc, Landrace y Large White), con un peso inicial individual (peso corporal inicial, PCI) de $8,78 \pm 1,95$ kg. Se distribuyeron en base al peso corporal. Se utilizaron cuatro tratamientos: control (dieta basal), proteasa VPro a dosis de 100, 200 y 300 g/t. La duración del ensayo fue de 28 días. Los resultados mostraron que, en comparación con el grupo control, la ganancia media diaria del grupo experimental (Ganancia media diaria, GMD) mejoró significativamente ($P < 0,05$), así como el consumo medio diario (CMD)

No se encontraron diferencias significativas en índice de conversión (IC); la tasa de diarrea en los lechones de los grupos de ensayo descendió significativamente ($p < 0,05$) y mejoró de forma significativa ($p < 0,05$) la digestibilidad de energía y proteína crudas.

La triyodotironina (T3), la tiroxina (T4) y la hormona de crecimiento (HC) aumentaron de forma significativa ($p < 0,05$). En comparación con el grupo de control, la longitud de las vellosidades duodenales del grupo con proteasa mejoró significativamente ($p < 0,05$) y también lo hizo la relación villi:criptas en duodeno e íleon. En general, la adición a la dieta de 100, 200 o 300 g/t de proteasa mejora el crecimiento de los lechones. Asimismo, mejoran el metabolismo y la salud microbiana intestinal, reducen la tasa de diarrea en los lechones y aumentan la digestibilidad de los nutrientes. La dosis óptima de proteasa para la respuesta en crecimiento de los lechones es aproximadamente de 200 g/t.

Introducción

Los lechones destetados son sensibles a los patógenos contenidos en el alimento, a la diarrea y a la mortalidad causada por la baja resistencia, morfología intestinal imperfecta, baja secreción de los enzimas digestivos y baja digestibilidad de los nutrientes. Las proteasas, al actuar como suplemento de los enzimas endógenos, pueden mejorar la digestibilidad y la utilización de la proteína en el alimento, y también mejorar el crecimiento y el nivel de salud de los lechones.

Material y métodos

Proteasa

VPro, proteasa aspártica fabricada por Guangdong VTR y distribuida en Colombia por Tekzol SAS

Diseño experimental y raciones

Se utilizaron 25 lechones destetados híbridos ternarios (Duroc, Landrace y Large White) con un peso corporal inicial de $8,78 \pm 1,95$ kg y 28 días de edad. Se distribuyeron en 4 grupos en base al peso corporal, 6 réplicas por tratamiento y 5 animales por réplica. A partir de la dieta basal, se crearon los tratamientos añadiendo 100 g/t, 200 g/t y 300 g/t, con lo que se constituyeron los tratamientos experimentales. La duración del experimento fue de 28 días. La fórmula y la tabla de composición nutricional se muestran en la Tabla 1.

Registros y evaluaciones complementarias

Crecimiento

Ganancia Media Diaria (GMD). Se pesaron los lechones al principio y al final del ensayo y se calculó la ganancia media diaria.

Consumo medio diario (CMD). se calculó la ingesta media diaria de alimento desde el inicio del ensayo.

Índice de conversión. Se calculó el índice de conversión a partir del consumo y el crecimiento en el período experimental.

$$IC = \frac{GMD}{CMD}$$

Tabla 1 Composición y nivel de nutrientes en la dieta de base

Ingredientes	Porcentaje
Maíz	56,13
Harina de soja	20,00
Soja extruida	8,00
Harina de pescado	4,00
Suero en polvo	7,00
Aceite de soja	2,08
Fosfato bicálcico	0,50
Carbonato cálcico	0,78
Sal	0,30
L-Lisina HCl	0,30
DL-Metionina	0,06
L-Treonina	0,08
L-Triptófano	0,02
Óxido de cromo	0,25
Premezcla	0,50
Total	100,00
Nutrientes	Porcentaje
Energía digestible (MJ/kg)	14,59
Proteína bruta	20,12
Calcio	0,69
Fósforo total	0,50
Lisina	1,23
Metionina	0,36
Treonina	0,73
Triptófano	0,21

Nota: La premezcla aporta los siguientes elementos por kg de alimento: vitamina A, 12.000 IU; vitamina D3, 2500 IU; vitamina E, 30 IU; vitamina K3, 30 mg; vitamina B12, 12 µg; riboflavina, 4 mg; ácido pantoténico, 15 mg; niacina, 40 mg; cloruro de colina, 400 mg; ácido fólico, 0,7 mg; vitamina B1, 1,5 mg; vitamina B6, 3 mg; biotina, 0,1 mg; Mn, 40 mg; Fe, 90 mg; Zn, 100 mg; Cu, 8,8 mg; I, 0,35 mg; Se, 0,3 mg.

² Se analizaron la proteína bruta, el calcio, y el fósforo. El resto de valores son calculados.

Tasa de diarrea

Para observar la gravedad de la diarrea en los lechones se recogieron heces diariamente, se determinó la humedad en las mismas y se les asignó una puntuación en base al contenido de humedad. Los criterios de puntuación se muestran en la Tabla 2. Cuando el índice fecal de un lechón es superior a 1, se considera que el lechón tiene diarrea. El cálculo se efectúa como sigue.

$$\text{Tasa de diarrea (\%)} = \frac{\text{Individuos con diarrea} \times \text{días de duración}}{\text{Número de lechones analizados} \times \text{días en ensayo}}$$

Tabla 2. Índice de puntuación fecal

Gravedad	Humedad (%)	Puntuación
Normal	<70	0
Ligera	70~75	1
Media	75~80	2
Severa	>80	3

Digestibilidad de nutrientes

En los días de ensayo 26, 27 y 28 se añadió a las dietas 0,25% de óxido de cromo como indicador externo para medir la digestibilidad de los nutrientes: energía bruta (EB), extracto etéreo (EE), proteína bruta (PB), materia seca (MS) y materia orgánica (MO),

La fórmula para el cálculo de la digestibilidad por medio del indicador externo es la siguiente:

$$\text{Digestibilidad (\%)} = \left[1 - \frac{b \times c}{(a \times d)} \right] \times 100.$$

Donde:

a es el contenido del nutriente (%) en el alimento; b es el contenido del nutriente (%) en la muestra fecal; c es el contenido de cromo en el alimento (%); d es el contenido de cromo en la muestra fecal (%).

Índice serológico

En el día 28 del experimento, se recogieron 5 ml de sangre de la vena cava anterior de cada cerdo y se prepararon muestras de suero por medio de un centrifugado a 3000 rpm durante 10 minutos. A continuación, las muestras se almacenaron a -20 °C hasta el momento del análisis.

Se utilizaron kits de radioinmunoensayo para la determinación de la triyodotironina (T3), la tiroxina (T4), hormona de crecimiento (HC) y superóxido dismutasa (SOD).

Morfometría intestinal

En el día 28 del experimento, se seleccionaron 5 réplicas de cada tratamiento, y para cada réplica se seleccionó al azar un individuo para sacrificar. Se tomaron fragmentos del duodeno, yeyuno e íleon y se almacenaron en un tampón de formalina neutra al 10%.

Las muestras se deshidrataron en alcohol, se incrustaron en parafina, se cortaron en secciones de 4 µm, se les aplicó tinción HE (hematoxilina al núcleo y eosina al citoplasma) y se seleccionaron 5 campos de vista típicos en cada sección de tejido. Se recogieron imágenes con un programa de análisis de imágenes en color verdadero y se midió la altura de las vellosidades y la profundidad de las criptas.

Análisis estadístico

Los datos se sometieron a un análisis ANOVA, usando el modelo GLM del paquete estadístico SAS, y se analizaron todos los indicadores en unidades por cada réplica. Se usó el análisis de líneas quebradas del sistema SAS para obtener la cantidad óptima de la proteasa según el crecimiento máximo. Las diferencias entre medias se compararon por medio de Duncan. Los resultados se expresaron por medio del método de los mínimos cuadrados promedio y el error estándar de la media, y todas las declaraciones de significancia se basan en un nivel de probabilidad de $p < 0.05$.

Resultados

Crecimiento y tasa de diarrea

En la Tabla 3 se muestra el efecto que produce la adición de VTPro en la dieta sobre el crecimiento y la tasa de diarrea de los lechones destetados.

Durante los días 0 a 28 del experimento, y en comparación con el grupo control, la GMD de los grupos con 100 g/t, 200 g/t y 300 g/t de VTPro aumentó significativamente ($P < 0.05$). La GMD del grupo con 200 g/t de VTPro fue la mayor, siendo un 9,59 % superior a la del grupo control. No se detectaron diferencias significativas para el CMD en los tratamientos experimentales.

Parámetro	Control	VTPro 100	VTPro 200	VTPro 300	SEM	P
Peso inicial, kg	8,75	8,77	8,79	8,77	0,13	0,99
Peso final, kg	19,57 ^b	20,18 ^{ab}	20,64 ^a	20,10 ^{ab}	0,16	0,01
GMD, g/d	386 ^c	407 ^{ab}	423 ^a	405 ^b	5,77	0,01
CMD, g/d	650	665	689	654	11,93	0,27
IC	1,67 ^a	1,63 ^b	1,62 ^b	1,61 ^b	0,01	0,04
Diarrea, %	12,14 ^a	7,86 ^b	7,62 ^b	7,62 ^b	1,14	0,03

^{a-c}Valores con exponentes distintos en la misma fila son significativamente diferentes ($P < 0.05$)

El IC fue significativamente menor ($P < 0.05$) en los grupos experimentales, siendo el del grupo con 300 g/t de VTPro el menor de todos, con un descenso de 3,59 % con respecto al grupo control. La

tasa de diarrea en los lechones de los tratamientos 100 g/t, 200 g/t y 300 g/t de VPro fue significativamente más baja ($P < 0.05$) que el grupo control. Las respectivas tasas fueron 35,26 %, 37,23 %, 37,23 % menos que el control.

Por medio del análisis de líneas quebradas también se descubrió que la dosis óptima de VPro para una tasa de crecimiento máximo de los lechones fue de 187,2 g/t)

Digestibilidad de los nutrientes

La Tabla 4 muestra el efecto de VPro sobre la digestibilidad de los nutrientes, comparada con el grupo control.

Tabla 4 - Efecto de VPro sobre la digestibilidad de nutrientes (%)						
Parámetro	Control	VPro 100	VPro 200	VPro 300	SEM	P
Energía bruta	70,85 ^b	74,88 ^a	76,68 ^a	74,96 ^a	0,72	<0,01
Proteína bruta	65,73 ^b	72,06 ^a	73,64 ^a	71,38 ^a	0,85	<0,01
Extracto etéreo	40,81	42,67	43,75	42,06	0,98	0,27
Materia seca	73,50	74,07	75,35	75,23	0,88	0,46
Materia orgánica	76,44	77,42	78,94	78,41	0,76	0,17

^{a-b}Valores con exponentes distintos en la misma fila son significativamente diferentes ($P < 0.05$)

No se detectaron diferencias significativas para extracto etéreo, materia seca o materia orgánica. Sin embargo, hubo diferencias significativas ($P < 0,05$) en la digestibilidad de la energía y proteína brutas frente a las del control.

La digestibilidad de la energía bruta y la de la proteína muestran una respuesta cuadrática, con el óptimo situado sobre los 200 g/t, lo que coincide con los datos de GMD presentador anteriormente en la Tabla 3 y en la Figura 1.

Índice serológico

La Tabla 5 muestra los efectos de VPro sobre los parámetros bioquímicos sanguíneos de los lechones.

Tabla 5 - Efecto de VPro sobre parámetros serológicos						
Parámetro	Control	VPro 100	VPro 200	VPro 300	SEM	P
T3, ng/ml	0,80 ^b	0,94 ^{ab}	1,03 ^a	0,89 ^{ab}	0,05	0,04
T4, ng/ml	43,94 ^b	51,63 ^{ab}	58,90 ^a	46,09 ^b	2,96	0,02
HC, ng/ml	4,16 ^b	4,43 ^{ab}	4,78 ^a	4,36 ^{ab}	0,12	0,02
SOD, U/ml	79,92	81,89	82,20	81,89	0,88	0,39

^{a-b}Valores con exponentes distintos en la misma fila son significativamente diferentes ($P < 0.05$)

No hubo diferencias significativas en el contenido en superóxido dismutasa del suero entre los tratamientos. Sin embargo, en comparación con el grupo control, aumentaron significativamente ($P < 0.05$) los niveles de triyodotironina, tiroxina y hormona del crecimiento en el suero de los tratamientos con VPro, apreciándose de nuevo una respuesta de tipo cuadrático con el óptimo situado sobre los 200 g/t.

Morfometría intestinal

La Tabla 6 muestra los efectos de VPro sobre la morfometría intestinal de los lechones del ensayo.

En comparación con el grupo control, la altura de las vellosidades del duodeno aumentó significativamente ($p < 0.05$) en los grupos con adición de VPro. La relación vellosidad:criptas en el duodeno y el íleon de los grupos con VPro también aumentó significativamente ($p < 0.05$). El aumento en altura de las vellosidades del duodeno con respecto al control fue de 9,99%, 11,49% y 8,85% para las dosis de 100 g/t, 200 g/t, y 300 g/t, respectivamente. La relación vellosidad:criptas del duodeno fue de 9,72%, 11,81% y 10,42% más altas que el control, mientras que en el íleon fue 6,82, 8,33% y 8,33 % más alta que el control, para las dosis de 100 g/t, 200 g/t, y 300 g/t, respectivamente.

Tabla 5 - Efecto de VTPro sobre parámetros serológicos

Parámetro	Control	VTPro 100	VTPro 200	VTPro 300	SEM	P
Altura vellosidades (μm)						
Duodeno	382.31 ^b	420.49 ^a	426.24 ^a	416.13 ^a	8.43	0.02
Yeyuno	362.33	378.18	383.83	382.66	15.95	0.79
Íleon	307.22	324.54	321.20	319.63	7.34	0.42
Profundidad de criptas (μm)						
Duodeno	266.00	266.49	264.36	262.31	5.63	0.84
Yeyuno	258.54	262.69	266.81	264.45	10.16	0.98
Íleon	232.42	230.62	225.17	224.29	5.29	0.78
Relación vellosidad: cripta						
Duodeno	1.44 ^b	1.58 ^a	1.61 ^a	1.59 ^a	0.02	0.01
Yeyuno	1.40	1.45	1.44	1.45	0.04	0.88
Íleon	1.32 ^b	1.41 ^a	1.43 ^a	1.43 ^{ab}	0.02	0.01

^{a-b}Valores con exponentes distintos en la misma fila son significativamente diferentes ($P < 0.05$)

Conclusiones

En resumen, la adición de VTPro a la dieta de lechones recién destetados potencia el metabolismo orgánico, mejora el estado de salud de los animales, reduce la tasa de diarrea y mejora la digestibilidad de los nutrientes.

En consecuencia, se mejora el crecimiento y la productividad en la fase inmediatamente posterior al destete

De acuerdo con este estudio, la dosis óptima de VTPro es de 200 g/t