



Agrociencia

ISSN: 1405-3195

agrocien@colpos.mx

Colegio de Postgraduados

México

Morales, Marco A.; Cervantes, Miguel; Cuca, Manuel; Figueroa, J. Luis; Pro, Arturo; Araiza, Benedicto;
Cervantes, Maximiliano; Torrentera, Noemí

Digestibilidad ileal de aminoácidos y comportamiento productivo de cerdos alimentados con dietas a
base de trigo, adicionadas con una proteasa fungal

Agrociencia, vol. 36, núm. 5, septiembre-octubre, 2002, pp. 515-522

Colegio de Postgraduados

Texcoco, México

Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=30236502>

- Cómo citar el artículo
- Número completo
- Más información del artículo
- Página de la revista en redalyc.org

redalyc.org

Sistema de Información Científica

Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal

Proyecto académico sin fines de lucro, desarrollado bajo la iniciativa de acceso abierto

DIGESTIBILIDAD ILEAL DE AMINOÁCIDOS Y COMPORTAMIENTO PRODUCTIVO DE CERDOS ALIMENTADOS CON DIETAS A BASE DE TRIGO, ADICIONADAS CON UNA PROTEASA FUNGAL

ILEAL DIGESTIBILITY OF AMINO ACIDS AND PERFORMANCE OF PIGS FED WHEAT DIETS, SUPPLEMENTED WITH FUNGAL PROTEASE

Marco A. Morales-Maldonado¹, Miguel Cervantes-Ramírez², Manuel Cuca-García¹, J. Luis Figueroa-Velasco¹, Arturo Pro-Martínez¹, Benedicto Araiza-Piña², Maximiliano Cervantes-Ramírez y Noemí Torrentera-Olivera²

¹Especialidad en Ganadería. Instituto de Recursos Genéticos y Productividad. Colegio de Postgraduados. 56230. Montecillo, Estado de México. ²Instituto de Ciencias Agrícolas. Universidad Autónoma de Baja California. Mexicali, Baja California. (miguel.cervantes@sia.mx, uabc.mx)

RESUMEN

Las enzimas proteolíticas exógenas mejoran la digestibilidad de los aminoácidos, disminuyendo el desperdicio de proteínas. Para evaluar el efecto de una proteasa en dietas con trigo (*Triticum aestivum*), en la digestibilidad ileal aparente (DIA) de aminoácidos (AA) y el comportamiento productivo de cerdos en crecimiento, se realizaron dos experimentos. En ambos, la dieta base contenía trigo, 0.55% lisina, 0.10% treonina, vitaminas y minerales. En el experimento 1 se utilizaron cuatro cerdos canulados en ileon, en dos periodos con un diseño cruzado (crossover). Los tratamientos fueron: 1) Dieta base, y 2) dieta base más 0.3% de proteasa. Ambas dietas contenían 0.4% de óxido crómico. El alimento se mezcló con agua y se ofreció dos veces diariamente, en raciones iguales, a las 7.00 y 19.00 h, en dos periodos de 12 d; ocho de adaptación y cuatro de recolección de muestras. La recolección fue continua de 7.00 a 13.00 h (9 y 11 d), y de 13.00 a 19.00 h (10 y 12 d). No hubo efecto de la enzima en la DIA de AA ($p>0.10$). En el experimento 2 se utilizaron 28 cerdos agrupados por peso, edad, sexo y camada, en cuatro tratamientos con siete repeticiones, en un diseño de bloques completos al azar: 1) dieta base; y 2, 3 y 4: dieta base más 0.1, 0.2 y 0.3% de proteasa, respectivamente. La enzima no afectó ganancia de peso, consumo de alimento, de lisina y de treonina ($p>0.10$), pero aumentó la conversión alimenticia ($p=0.016$). Estos resultados sugieren que la adición de proteasa a dietas con base a trigo, para cerdos en crecimiento, no mejora la respuesta productiva ni la digestibilidad aparente de AA.

Palabras clave: Cereal, enzimas, ileal, porcinos, proteína.

INTRODUCCIÓN

La adición de aminoácidos (AA) sintéticos, en dietas bajas en proteína para cerdos en crecimiento, mejora el balance entre los AA de la dieta, y como consecuencia, reduce la contaminación ambiental al

ABSTRACT

Proteolytic exogenous enzymes improve amino acid digestibility and reduce protein waste. To evaluate the effect of adding a fungal protease to wheat-based diets on the apparent ileal digestibility (AID) of amino acids (AA) and the performance of growing pigs, two experiments were conducted. In both, the basal diet contained wheat (*Triticum aestivum*), 0.55% lysine, 0.10% threonine, vitamins and minerals. In Experiment 1, four pigs with a cannula in ileum were used in two periods, in a crossover design, in a completely randomized block design. The treatments were: 1) Basal diet, and 2) basal diet plus 0.3% protease. Both diets contained 0.4% chromic oxide. Feed was mixed with water, and offered twice a day, in equal rations, at 7.00 and 19.00 h, in two 12-d periods; 8 d adaptation to diet and 4 d for digesta collection. This was continuous from 7.00 to 13.00 h (9 and 11 d), and from 13.00 to 19.00 (10 and 12 d). There was not enzyme effect on the AID of AA ($p>0.10$). In Experiment 2, 28 pigs were grouped based on weight, age, sex and litter, into four treatments, with seven replicates, in a randomized complete blocks design. The treatments were: 1) basal diet; treatments 2, 3, and 4: basal diet plus 0.1, 0.2, and 0.3% protease, respectively. The enzyme did not affect the weight gain, nor feed, lysine, and threonine intake ($p>0.10$), but deteriorated feed conversion ($p=0.016$). These results suggest that the addition of protease to wheat-based diets for growing pigs, does not improve pig performance nor apparent ileal digestibility of AA.

Key words: Cereal, enzymes, ileal, swine, protein.

INTRODUCTION

Amino acids (AA) added to low-protein diets for growing pigs, improve AA balance in diets and, because of reduced nitrogen (N) excretion in feces and urine, reduce environmental pollution (Cromwell, 1996). A low reduction in crude protein (CP) concentration (up to four percentage units) in sorghum-soybean meal diets supplemented with crystalline lysine and threonine, does not affect growth performance of pigs (Hansen *et al.*, 1993). However, a higher reduction (up to

disminuir la excreción de nitrógeno en heces y orina (Cromwell, 1996). La reducción moderada en el contenido de PC (hasta cuatro unidades porcentuales) de dietas a base de sorgo (*Sorghum vulgare*)-pasta de soya (*Glycine soja*), y la inclusión de lisina y treonina sintéticas, no afecta el comportamiento productivo de los cerdos (Hansen *et al.*, 1993). Sin embargo, una reducción mayor (cinco o más unidades porcentuales) disminuye la ganancia de peso y la eficiencia alimenticia de los cerdos, aún cuando estas dietas sean complementadas para que los AA cubran los requerimientos del cerdo (Philippe *et al.*, 1992).

El nivel de PC en la dieta afecta la digestibilidad aparente de AA en cerdos (Fan *et al.*, 1994; Cervantes *et al.*, 1997); esto sugiere que deficiente respuesta de crecimiento de los cerdos alimentados con dietas sorgo-pasta de soya, bajas en proteína y adicionadas con AA sintéticos, puede atribuirse parcialmente a la baja digestibilidad de los AA de esas dietas. El uso de carbohidrasas en dietas con trigo para cerdos, para mejorar la digestibilidad de los aminoácidos, está documentado (Campbell y Bedford, 1992; Bedford, 2000). Dietas a base de trigo, en lugar de sorgo o maíz, con niveles subóptimos de PC, aparentemente no se han evaluado; además, la información disponible relacionada con el efecto de la adición de proteasas a dietas con trigo es nula. En un estudio previo (Cervantes *et al.*, 2000), la adición de una proteasa a dietas sorgo-pasta de soya, bajas en proteína, no tuvo efectos significativos. El objetivo de estos experimentos fue evaluar el efecto de adicionar una proteasa fungal a dietas con trigo, en la digestibilidad ileal aparente (DIA) de AA y en la respuesta productiva de cerdos en crecimiento.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizaron dos experimentos con cerdos (híbridos Yorkshire-Hampshire-Landrace) en crecimiento: uno de digestibilidad ileal y otro de comportamiento productivo, en la Unidad Experimental Porcina del Instituto de Ciencias Agrícolas de la Universidad Autónoma de Baja California, UABC. Ambos experimentos se realizaron en verano (temperaturas promedio máximas y mínimas, 37.8 y 22.3 °C). Los cerdos se obtuvieron de la granja experimental del mismo Instituto, y se alojaron individualmente en corraletas de 1.2 X 0.6 m. Cada corraleta tenía un comedero de tolva y bebedero automático tipo chupón. Antes de iniciar cada experimento, todos los cerdos consumieron una dieta sorgo-pasta de soya (16.5% PC). En ambos experimentos se utilizó un mismo lote de trigo, del tipo harinero, producido en el valle de Mexicali en condiciones de irrigación.

Experimento 1

Se utilizaron cuatro cerdas (22.0 kg peso promedio inicial; 9-11 semanas de edad), con cánulas en íleon terminal. Después de 24 h de ayuno, las cerdas se sometieron a la cirugía para implantarles las

five or more percentage units) reduces daily weight gain and feed efficiency, despite these diets being supplemented in order for the AA to meet pig requirements (Philippe *et al.*, 1992).

The dietary PC concentration affects apparent ileal digestibility (AID) of AA in pigs (Fan *et al.*, 1994; Cervantes *et al.*, 1997); this suggests that the poor growth performance of pigs fed sorghum-SBM, low-protein, amino acid-supplemented diets, may be partially attributed to the low digestibility of AA of that diet. Adding carbohydrase to wheat-based diets for pigs, to improve the digestibility of AA, was reported (Campbell and Bedford, 1992; Bedford, 2000). Wheat-based diets, besides sorghum or corn, with suboptimal levels of CP, apparently have not been evaluated; in addition, the information available related to the effect of addition of proteases to wheat-based diets, is null. In a previous study (Cervantes *et al.*, 2000), the addition of a protease to sorghum-SBM, low-protein diets, had no significant effects. The objective of these experiments was to evaluate the effect of adding a fungal protease to wheat-based diets, on the apparent ileal digestibility of AA and on the growth performance of growing pigs.

MATERIALS AND METHODS

Two experiments were conducted using crossbred (Yorkshire-Hampshire-Landrace) growing pigs: an ileal digestibility trial and a growth performance trial in the Unidad Experimental Porcina del Instituto de Ciencias Agrícolas de la Universidad Autónoma de Baja California. Both experiments were conducted during summer (average maximum temperature: 37.8 °C; minimum: 22.3 °C). Pigs came from the herd of the same experimental unit, and were individually allotted in 1.2 X 0.6 m pens; each pen had a feeder and an automatic drinker. Before each experiment, all pigs were fed a sorghum-SBM diet (16.5% CP). The wheat used in both experiments came from the same stock, farinaceous kind, produced in the Mexicali valley under irrigation conditions.

Experiment 1

Four gilts (22.0 kg initial weight; 9-11 weeks of age), cannulated in the terminal ileum, were used. After 24-h of fast, gilts were anesthetized and surgically cannulated, under humanitarian procedures. Gilts had a 15 d recovery period after surgery, evidenced by the lack of swollen around the incision, and by the recovery of normal feed intake. During the recovery period, gilts were fed same sorghum-SBM diet (16.5% CP), and water was available to free access 24 h a day.

The treatments were diets formulated with wheat as major ingredient, vitamins and minerals, 0.55% lysine, and 0.10% threonine (Table 1). Treatment 1 was the basal diet without protease, and treatment 2 was the basal diet plus 0.3% of fungal protease (180 000 hemoglobin units g⁻¹, at pH of 4.7). Diet had approximately 85% of requirements for lysine and threonine and 100% of requirements for vitamins and

cánulas, la cual se realizó previa aplicación de tranquilizantes y anestésicos, siguiendo procedimientos humanitarios. Las cerdas tuvieron 15 días de recuperación, el cual se evidenció por la falta de inflamación alrededor del área de incisión y por la recuperación del consumo normal. Durante este período las cerdas recibieron la misma dieta sorgo-pasta de soya (16.5% PC) y el agua estuvo disponible las 24 h del día.

Los tratamientos fueron dietas elaboradas con trigo como ingrediente mayor, con vitaminas y minerales, 0.55% lisina, y 0.10% treonina (Cuadro 1). El tratamiento 1 fue la dieta sin proteasa, y el tratamiento 2 fue la dieta más 0.3% de la proteasa fungal (180 000 unidades hemoglobina gramo⁻¹, a pH 4.7). La dieta cubrió, aproximadamente, 85% de los requerimientos para lisina y treonina y 100% de los de vitaminas y minerales para cerdos de 20-50 kg de peso vivo (NRC, 1998). Asimismo, las dietas contenían 0.4% óxido crómico para determinar la DIA de AA. La composición de AA del trigo y de las dietas se muestra en el Cuadro 2.

Las cerdas se alimentaron a las 7.00 y 19.00 h, en cantidades iguales cada vez y se entrenaron para consumir su ración en 15 minutos o menos. El alimento se mezcló con agua (a temperatura ambiente) en proporción 1:1 para asegurar el consumo de toda la ración en el tiempo programado. La enzima se añadió en el momento en que se mezcló el alimento con el agua. La cantidad de alimento ofrecida fue igual a la cantidad más baja consumida durante el periodo de adaptación, para garantizar un nivel similar de consumo. El experimento se condujo de acuerdo con un diseño cruzado (cross-over) para evitar efectos residuales, en dos periodos experimentales. Cada periodo consistió de 12 d: 8 d de adaptación a la dieta y 4 d para recolección de muestras ileales. La recolección se realizó de manera continua de 7.00 a 13.00 h los días 9 y 11, y de 13.00 a 19.00 h los días 10 y 12. Las muestras se recolectaron en bolsas de plástico atadas a la cánula, y se retiraron una vez que se llenaron o cuando habían permanecido 15 min atadas a la cánula. Las muestras se almacenaron a -20 °C inmediatamente después de haberse recolectado, hasta que se analizaron en el laboratorio.

Cuadro 1. Composición (%) de las dietas experimentales (experimento 1).

Table 1. Composition (%) of experimental diets (experiment 1).

Ingredientes	Dieta	
	Base	Base + Enzima
Trigo	96.35	96.05
Proteasa		0.30
L-lisina-HCl	0.55	0.55
L-treonina	0.10	0.10
Carbonato de calcio	1.18	1.18
Fosfato dicálcico	0.87	0.87
Sal iodada	0.35	0.35
Premezcla de vitaminas y minerales [†]	0.10	0.10
Oxido crómico	0.40	0.40

[†] Proporcionó por kilogramo de dieta: Vitamina A, 4800 UI; vitamina D3, 1600 UI; vitamina E, 4.8 UI; vitamina K3, 1.6 mg; riboflavina, 4 mg; d-ácido pantoténico, 7.2 mg; niacina, 16 mg; vitamina B12, 12.8 µg; Zn, 64 mg; Fe, 64 mg; Cu, 4 mg; Mn, 4 mg; I, 0.36 mg; Se, 0.13 mg.

minerals of 20-50 kg pigs (NRC, 1998). Diets were added with 0.4% chromic oxide to determine the AID of AA. Amino acids composition of wheat and basal diet are shown in Table 2.

Gilts were fed at 7.00 and 19.00 h, in equal amounts each time, and were trained to consume their meal in 15 min or less. Feed was mixed with water (at room temperature) in a 1:1 ratio to ensure consumption of the meal in the allotted time. The enzyme was added when feed was mixed with water. The amount of feed offered to gilts was that of the lowest intake during the adaptation period, to assure a similar level of intake. The experiment was conducted in a cross-over design to avoid residual effects, in two experimental periods. Each period consisted of 12 d: 8 d for adaptation to diet, and 4 d for collection of ileal samples. Collection of samples was done continuously from 7.00 to 13.00 h on days 9 and 11, and from 13.00 to 19.00 h on days 10 and 12. Samples were collected in plastic bags tied to the cannula, and were withdrawn when were full or when 15 min passed tied to the cannula. Samples were frozen to -20 °C immediately after collection, until laboratory analysis.

At the end of the experiment, samples were thawed, homogenized, and dried-frozen. Samples of ileal digesta and diets were analyzed for dry matter, crude protein (AOAC, 1990), AA (Sedgwick *et al.*, 1991) and chromic oxide (Hill and Anderson, 1958). Data were analyzed (Steel and Torrie, 1980), using GLM procedure of SAS (1988).

Experiment 2

The experiment 2 was a growth performance trial. Twenty eight (22.9 kg initial weight) crossbred growing pigs, grouped by weight, sex, litter, and age (9 to 11 weeks) were used. Littermate pigs were not included in the same group, to avoid likely genetic effects. Pigs were randomly assigned to four treatments, with seven replicates (four

Cuadro 2. Composición analizada de aminoácidos del trigo y de la dieta base utilizada en los experimentos 1 y 2.

Table 2. Analyzed composition of amino acids in wheat and basal diet used in experiments 1 and 2.

Aminoácido	Trigo	Dieta base
Esenciales:		
Arginina	0.55	0.57
Fenilalanina	0.49	0.51
Histidina	0.26	0.27
Isoleucina	0.35	0.36
Leucina	0.72	0.75
Lisina	0.35	0.77
Metionina	0.18	0.19
Treonina	0.39	0.40
Valina	0.45	0.47
No esenciales:		
Ácido aspártico	0.52	0.54
Ácido glutámico	2.98	3.08
Alanina	0.37	0.38
Glicina	0.41	0.42
Prolina	0.98	1.01
Serina	0.44	0.46
Tirosina	0.28	0.29

Al final del experimento las muestras de contenido ileal se descongelaron, se homogeneizaron y se secaron por liofilización. Las muestras de contenido ileal y de dieta se prepararon para análisis de materia seca, PC (AOAC, 1990), AA (Sedgwick *et al.*, 1991) y óxido crómico (Hill y Anderson, 1958). La información se analizó (Steel y Torrie, 1980), utilizando el procedimiento GLM (SAS, 1988).

Experimento 2

El experimento 2 consistió en una prueba de comportamiento productivo. Se utilizaron 28 cerdos, (peso promedio inicial 22.9 kg) agrupados por peso, sexo, camada y edad (9 a 11 semanas). No se incluyeron cerdos de una misma camada en un mismo grupo, para evitar posibles efectos genéticos. Los cerdos se distribuyeron aleatoriamente en cuatro tratamientos, con siete repeticiones (cuatro machos castrados y tres hembras) por tratamiento. Cada cerdo se consideró una unidad experimental. Los cerdos se pesaron cada 7 d; el consumo de alimento, lisina y treonina, y la conversión alimenticia también se midió con esa frecuencia. La duración del experimento fue 35 d.

Las dietas de este experimento (Cuadro 3) se elaboraron con trigo como ingrediente mayor y se complementaron con lisina y treonina sintéticas, vitaminas y minerales. El tratamiento 1 fue la dieta base; en los tratamientos 2, 3 y 4 se usó la dieta base más 0.1, 0.2 y 0.3% de proteasa. Estas cantidades son a 2, 4 y 6 veces el nivel recomendado por el fabricante de la enzima, porque Cervantes *et al.* (2000) no encontraron efecto de la enzima en la DIA de AA al usar el nivel sugerido por el fabricante. Lisina y treonina sintéticas se adicionaron a la dieta base para cubrir, aproximadamente, 85% de los requerimientos para cerdos de 20-50 kg (NRC, 1998). Las dietas fueron deficientes en lisina y treonina con el propósito de detectar incrementos en la DIA de los AA por efecto de la adición de la proteasa, y para obtener mejor comportamiento productivo de los cerdos; éstos son los primeros dos AA limitantes en trigo para cerdos. Se adicionaron vitaminas y minerales a todas las dietas para cubrir, 100% de los requerimientos.

Se utilizó un diseño de bloques completos al azar (Steel y Torrie, 1980), en el cual los criterios de bloqueo fueron el peso inicial, sexo, edad, y la camada de origen. La información se analizó utilizando el procedimiento GLM (SAS, 1988). Las medias de tratamientos se compararon con la prueba de Tukey (Steel y Torrie, 1980). Además, se realizó un análisis de regresión simple para cada variable (SAS, 1988), con el siguiente modelo estadístico (Steel y Torrie, 1980):

$$y_{ij} = \beta_0 + \beta_1[x_{ij} - x_{..}] + E_{ij}$$

donde y_{ij} = i-ésimo valor de la variable de respuesta; β_0 = ordenada al origen de la ecuación lineal; β_1 = coeficiente de regresión (pendiente de la recta); x_{ij} = nivel de enzima en la i-ésima dieta; $x_{..}$ = media del nivel de enzima en la i-ésima dieta; E_{ij} = error aleatorio.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Experimento 1

La adición de 0.3% de proteasa en la dieta no afectó ($p > 0.10$) la DIA de ninguno de los AA, (Cuadro 4). La

barrows and three gilts) per treatment. Each pig was considered an experimental unit. Pigs were weighed weekly; and feed intake, lysine and threonine intake, and feed conversion were determined weekly, too. The experiment lasted 35 d.

Diets were elaborated with wheat (Table 3) as the major ingredient, and were supplemented with crystalline lysine and threonine, vitamins and minerals. Treatment 1 was a basal diet; treatments 2, 3, and 4 were basal diet plus 0.1, 0.2, and 0.3% of protease. These amounts are 2, 4, and 6 times the recommended level of the enzyme manufacturer, because Cervantes *et al.* (2000) found no effect on AID of AA using this enzyme at the level suggested by the manufacturer. Crystalline lysine and threonine were added to diets to meet approximately 85% of growing (20-50 kg) pig requirements (NRC, 1998). Diets were deficient in lysine and threonine in order to detect improvements of AID of AA by the enzyme protease addition, and to obtain better growth performance of pigs; these are the first two limiting AA in wheat for pigs. Vitamins and minerals were added to all diets to meet 100% of the requirements.

A randomized complete blocks design (Steel and Torrie, 1980) was used, where the blocking criteria were initial weight, sex, age, and litter of the pigs. Data were analyzed using GLM procedure (SAS, 1988). Treatments means were compared using Tukey test (Steel and Torrie, 1980). In addition, a regression analysis was done for each variable (SAS, 1988), under the following statistical model (Steel and Torrie, 1980):

$$y_{ij} = \beta_0 + \beta_1[x_{ij} - x_{..}] + E_{ij}$$

Cuadro 3. Composición (%) de las dietas para la prueba de comportamiento productivo de cerdos en crecimiento (experimento 2).

Table 3. Composition (%) of diets used in the growth performance trial of growing pigs (experiment 2).

Tratamiento	T1	T2	T3	T4
Enzima, %	Base, 0	0.1	0.2	0.3
Ingrediente (%):				
Trigo	96.65	96.55	96.45	96.35
L-Lisina-HCl	0.55	0.55	0.55	0.55
L-Treonina	0.10	0.10	0.10	0.10
Fosfato dicálcico	0.87	0.87	0.87	0.87
Carbonato de calcio	1.18	1.18	1.18	1.18
Sal iodada	0.35	0.35	0.35	0.35
Vitaminas y minerales [†]	0.20	0.20	0.20	0.20
Antibiótico [‡]	0.10	0.10	0.10	0.10
Análisis calculado:				
Proteína cruda	11.21	11.20	11.19	11.18
Lisina	0.76	0.76	0.76	0.76
Treonina	0.46	0.46	0.45	0.45
Metionina	0.54	0.54	0.54	0.54

[†] Proporcionó por kilogramo de dieta: Vitamina A, 4800 UI; vitamina D3, 1600 UI; vitamina E, 4.8 UI; vitamina K3, 1.6 mg; riboflavina, 4 mg; d-ácido pantoténico, 7.2 mg; niacina, 16 mg; vitamina B12, 12.8 µg; Zn, 64 mg; Fe, 64 mg; Cu, 4 mg; Mn, 4 mg; I, 0.36 mg; Se, 0.13 mg.

[‡] Proporcionó 200 mg de clorhidrato de oxitetraciclina por kg de dieta.

DIA de arginina, fenilalanina y valina tendió a ser mayor en la dieta con proteasa, pero esta diferencia no fue significativa. Lo anterior probablemente se debe a que el contenido de casi todos los AA esenciales en el trigo y en la dieta base (Cuadros 2 y 3), fue inferior a lo recomendado por NRC (1998) para cerdos en crecimiento.

Los valores de DIA de lisina en este experimento (76.6 y 76.9%) fueron superiores a los obtenidos por Fan *et al.*, (comunicación personal)³ en trigos ricos en proteína (17.0 y 19.9% PC), de 59 a 70%. La elevada DIA de lisina observada en este experimento se atribuye a que se adicionó 0.55% de lisina sintética, la cual se considera 100% digestible (Chung y Baker, 1992). Asimismo, la DIA de treonina, aunque baja, es superior a la observada en otro estudio realizado en esta estación experimental (Cervantes *et al.*, 1997). Esta diferencia también se atribuye a que se agregó 0.10% de treonina sintética (100% digestible) a las dietas de este experimento.

En un estudio previo (Cervantes *et al.*, 2000) con dietas sorgo-pasta de soya, no hubo efecto en la DIA de AA; al usar 0.05% de proteasa, que es el nivel recomendado por el fabricante. Se supuso que la concentración de la proteasa utilizada en aquel estudio era muy baja, por lo que en este experimento se utilizaron niveles 2, 4 y 6 veces superiores al recomendado; sin embargo, no hubo respuesta en la DIA de AA. En consecuencia, estos resultados sugieren que, o la actividad óptima de la proteasa se realiza fuera de los intervalos de temperatura y pH del lumen intestinal, o que las proteínas del trigo se encuentren secuestradas en el endospermo por otros componentes que no permiten la interacción entre las proteasas y la proteína del trigo. La segunda suposición parece más probable, porque el trigo tiene compuestos orgánicos que interactúan directamente con sus proteínas.

El trigo, la cebada (*Hordeum vulgare*) y el centeno (*Secale cereale*), tienen carbohidratos no almidonosos (CNA) que afectan las características fisicoquímicas de las proteínas de los granos. Los CNA más abundantes en el trigo son arabinosa y xilosa (arabinoxilanos). La concentración total de CNA en trigo fluctúa entre 10.5 y 16.6%; xilosa y arabinosa representan más de 60% del total de CNA (8.2%; Zijstra *et al.*, 1999). Los arabinoxilanos forman coloides en el contenido intestinal, impidiendo la interacción de las proteínas de la dieta con las proteasas (Bedford, 1995). Los animales no producen las enzimas que degradan los arabinoxilanos; en consecuencia, el comportamiento productivo y la DIA de AA en cerdos se afecta negativamente cuando los granos tienen concentraciones elevadas de CNA (Yin *et al.*, 2000).

El ácido fítico o fitato de los cereales interactúa con las proteínas y minerales (Lázity y Lázity, 1995). Los

where y_{ij} = i -value of the response variable; β_0 = intercept of the lineal equation; β_1 = regression coefficient (slope of the line); x_{ij} = enzyme level in the i -diet; $\bar{x}_{..}$ = average of the enzyme level in the i -diet; E_{ij} = experimental error.

RESULTS AND DISCUSSION

Experiment 1

The addition of 0.3% protease to the diet did not affect ($p>0.10$) the AID of any AA (Table 4). The AID of arginine, phenylalanine, and valine tended to be higher in the diet with protease, but the difference was not significant. This result may be due to the fact that the content of all essential AA in the wheat and in the basal diet (Tables 2 and 3), was lowest than that recommended by NRC (1998) for growing pigs.

The AID values of lysine in this experiment (76.6 and 76.9%) were higher than the ones reported by Fan *et al.*, (personal communication)³ in protein-rich wheat (17.0 and 19.9% CP), from 59 to 70%. The higher AID of lysine observed in this experiment was because of the 0.55% crystalline lysine added, considered 100% digestible (Chung and Baker, 1992). Likewise, the AID of threonine, although low, is higher than the value found in other trial

Cuadro 4. Efecto de la adición de una proteasa fungal a dietas con base en trigo, en la digestibilidad ileal aparente (%) de aminoácidos en cerdas (experimento 1).

Table 4. Effect of addition of a fungal protease to wheat-based diets on apparent ileal digestibility (%) of amino acids in gilts (experiment 1).

Aminoácido	Dieta			
	Base	Base + Enzima	†p=	EE
Esenciales:				
Arginina	78.7	79.5	0.50	0.77
Fenilalanina	66.0	67.5	0.54	1.62
Histidina	78.2	78.6	0.65	0.78
Isoleucina	52.2	53.1	0.67	1.56
Leucina	66.7	67.1	0.55	1.27
Lisina	76.6	76.9	0.84	0.66
Metionina	67.1	67.5	0.72	1.14
Treonina	53.2	54.0	0.65	1.58
Valina	50.4	52.4	0.32	1.23
No esenciales:				
Acido aspártico	75.1	75.6	0.70	0.89
Acido glutámico	72.9	73.2	0.76	0.88
Alanina	54.7	55.2	0.89	1.97
Glicina	84.6	84.3	0.78	0.42
Prolina	86.4	86.8	0.77	0.51
Serina	63.4	63.1	0.96	1.35
Tirosina	72.9	73.5	0.53	0.88

[†] Valor de P del análisis de varianza. EE = Error estándar de la media.

³ Department of Animal and Foulty Science University of Guelph.

fitatos forman complejos con las proteínas del endospermo mediante la interacción con las cadenas radicales de los AA (Reddy *et al.*, 1982). Además, estos fitatos forman complejos estables con el fósforo, calcio, zinc y hierro. A través de estos minerales, los fitatos también interactúan con las proteínas del grano, formando complejos fitato-proteína-mineral, lo cual puede disminuir de la DIA de los AA. Por lo tanto, se espera que la adición de enzimas que degradan los CNA y los fitatos en dietas a base de trigo, tenga un efecto positivo en la DIA de AA en cerdos.

La adición de 0.05% de proteasa a dietas sorgo-pasta de soya no afectó la DIA de AA en los cerdos (Cervantes *et al.*, 1999). El sorgo tiene cantidades muy bajas de CNA, por lo que no se puede atribuir la falta de respuesta a los CNA. Sin embargo, aunque el grano de sorgo utilizado en ese experimento era de endospermo amarillo con niveles bajos de taninos, este compuesto también interactúa con las proteínas del grano de manera similar a como lo hacen los CNA (Lázity y Lázity, 1995).

Experimento 2

Los resultados de la prueba productiva se muestran en el Cuadro 5. No se encontró efecto de la enzima en la ganancia diaria de peso, consumo de alimento, de lisina y de treonina, ni en la conversión alimenticia. Cuando el análisis de regresión incluyó sólo los tratamientos con 0, 0.1 y 0.2% de proteasa, la conversión alimenticia empeoró de manera lineal ($p=0.017$) al elevar la proteasa de 0 a 0.2%, pero la conversión de los cerdos que consumieron 0.3% de proteasa no fue diferente a la de los que recibieron la dieta base ($p=0.40$). Estos resultados fueron similares a

Cuadro 5. Comportamiento productivo de cerdos en crecimiento alimentados con dietas a base de trigo y una proteasa fungal (experimento 2).

Table 5. Growth performance of growing pigs fed wheat-based diets and a fungal protease (experiment 2).

Variable	Proteasa en dieta, %				¶p=	EE
	0	0.1	0.2	0.3		
Ganancia de peso, g/d	598	585	562	552	0.16	12.8
Consumo de alimento, kg/d	1.39	1.39	1.44	1.31	0.34	0.03
Consumo de lisina, g/d	10.6	10.6	11.0	10.0	0.48	0.229
Consumo de treonina, g/d	6.4	6.4	6.6	6.0	0.47	0.138
Conversión alimenticia†	2.30	2.40	2.58	2.35	0.017	0.029

† Efecto lineal cuando el análisis de regresión de esta variable sólo incluyó los tratamientos con 0, 0.1 y 0.2% de proteasa en la dieta.

¶ Valor p del análisis de varianza. EE = Error estándar de la media.

carried out in this experimental station (Cervantes *et al.*, 1997). This difference is attributed to the 0.10% crystalline threonine (100% digestible) added to the diets in this experiment.

In a previous study (Cervantes *et al.*, 2000) with sorghum-SBM diets, there was no effect on AID of AA; when using 0.05%, which was the enzyme manufacturer recommended level. It was supposed that the protease concentration in that study was too low, so in this experiment it was increased 2, 4, and 6-fold; however, there was no effect on AID of AA. Consequently, these results suggested that, or the enzyme optimal activity was out of the temperature and pH ranges in the intestinal lumen, or the proteins of wheat are sequestered in the endosperm by other components, and do not allow an interaction between the protease and the wheat protein. The second hypothesis seems more feasible, because wheat has organic compounds interacting directly with its proteins.

Wheat, barley (*Hordeum vulgare*) and rye (*Secale cereale*), have non-starch polysaccharides (NSP), that affect the physicochemical characteristics of proteins in these grains. The NSP most abundant in wheat are arabinose and xilose (arabinoxilans). The total concentration of NSP varies between 10.5 and 16.6%; xilose and arabinose representing more than 60% of the total NSP (8.2%; Zijstra *et al.*, 1999). Arabinoxilans form colloids in the intestinal content, blocking the interaction of proteins with proteases enzymes (Bedford, 1995). The animals do not produce the enzymes to digest arabinoxilans; consequently, growth performance and AID of AA in pigs are negatively affected when grains have high concentration of NSP (Yin *et al.*, 2000).

Phytic acid or phytate of cereals interacts between proteins and minerals (Lázity and Lázity, 1995). Phytates form complexes with proteins in the endosperm through the interaction with the radical chains of the AA (Reddy *et al.*, 1982). In addition, these phytates form steady complexes with phosphorus, calcium, zinc, and iron. Through these minerals, phytates also interact with proteins in the grain, forming phytate-protein-mineral complexes, that can reduce the AID of AA. Therefore it is expected that enzyme addition to digest NSP and the phytates in wheat-basal diets, had a positive effect on AID of AA in pigs.

The addition of 0.05% of protease to sorghum-SBM diets did not affect AID of AA in pigs (Cervantes *et al.*, 1999). Sorghum has very low amounts of NSP; then, the lack of response can not be attributed to NSP. However, although the sorghum grain used in that experiment had yellow endosperm with low tannin concentration, this compound also interacts with proteins in the grain in a similar way to NSP (Lázity and Lázity, 1995).

los observados por Cervantes *et al.*, (2000) en cerdos con dietas sorgo-pasta de soya y esta proteasa.

En el Cuadro 6 se presentan los datos de consumo de AA digestibles y su requerimiento para cerdos con peso promedio similar al de los utilizados en este experimento. El cálculo del consumo se hizo considerando la composición de AA de la dieta base, el consumo promedio de alimento y la DIA de AA en cada tratamiento. El requerimiento se calculó de acuerdo con los modelos NRC (1998) para cerdos con peso vivo, ganancia de peso y ganancia de proteína, de 30 kg, 729 g y 250 g, respectivamente. Con excepción de arginina, el consumo de todos los AA esenciales fue inferior al requerimiento calculado. Más importante aún, la adición de la enzima a la dieta no incrementó el consumo de AA digestibles. Por ello, la falta de respuesta a la enzima parece reflejar la falta de respuesta en la DIA de los AA.

Lisina y treonina son los primeros dos AA limitantes en el trigo para cerdos. Estos dos AA se concentran principalmente en las albúminas y globulinas en la aleurona del trigo (Simmonds, 1989). Esta capa de células se caracteriza por lo grueso de sus paredes celulares y porque las proteínas están fuertemente ligadas a la matriz de celulosa, limitando el acceso de las proteasas a estas proteínas (Saunders y Kohlers, 1972). En consecuencia, la protección de las proteínas de la aleurona impide la digestión de estas proteínas, por las enzimas pancreáticas, e intestinales y las exógenas. Esto explica principalmente la falta de respuesta a la enzima fungal. Además, sugiere que la adición de otras enzimas que destruyan los carbohidratos que protegen a las proteínas de la aleurona (e.g., xilanasas, celulasas), puede ayudar a mejorar la DIA de AA en el trigo y el comportamiento productivo de los cerdos.

CONCLUSIONES

La adición de una proteasa fungal a dietas bajas en proteína, con trigo como ingrediente principal y con aminoácidos, no tiene efecto en la digestibilidad ileal aparente de aminoácidos y el comportamiento productivo de cerdos en crecimiento.

LITERATURA CITADA

- AOAC. 1990. Official Methods of Analysis (15th Ed.). Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC. 777 p.
- Bedford, M. R. 1995. Mechanism of action and potential environmental benefits from the use of feed enzymes. *Anim. Feed Sci. Technol.* 53: 145-155.
- Bedford, M. R. 2000. Exogenous enzymes in monogastric nutrition - their current value and future benefits. *Anim. Feed Sci. Technol.* 86: 1-13.
- Campbell, G. L., y M. R. Bedford. 1992. Enzyme applications for monogastric feeds; a review. *Can. J. Anim. Sci.* 72: 449-466.

Experiment 2

Growth performance results are shown in Table 5. There was not enzyme effect on average daily gain, feed intake, intake of lysine and threonine, or feed conversion. When regression analysis included just treatments with 0, 0.1 and 0.2% of protease, feed conversion linearly deteriorated ($p=0.017$) when protease increased from 0 to 0.2%; besides, feed conversion of pigs fed 0.3% protease diet was no different from pigs fed basal diet ($p=0.40$). These results were similar to those reported by Cervantes *et al.*, (2000) in pigs fed sorghum-SBM diets, with this protease.

The intake of digestible AA and their requirements for pigs with similar weight than those used in this experiment, are shown in Table 6. AA intake calculation was obtained from the AA composition in the basal diet, the average feed intake, and the AID of AA in each treatment. The requirement was calculated accordingly with the NRC (1998) models for pigs with body weight, daily gain, and protein gain, of 30 kg, 729 g, and 250 g, respectively. With the exception of arginine, the intake of all essential AA was lower than the estimated requirement. Moreover, the addition of enzyme to the diet did not increase the intake of digestible AA. Therefore, the lack of response to enzyme addition may reflect the lack of response on AID of AA.

Lysine and threonine are the first two limiting AA in wheat for pigs. These two AA are located mainly in albumin and globulin, in wheat aleurone (Simmonds, 1989). This layer of cells is characterized for having a thick cell wall, and proteins are strongly linked to the

Cuadro 6. Consumo y requerimiento (g/d) de aminoácidos digestibles (ileal aparente) de cerdos alimentados con dietas a base de trigo y adicionadas con diferentes niveles de una proteasa fungal.

Table 6. Intake and requirement (g/d) of digestible (apparent ileal) amino acids of pigs fed a wheat-based diet added with different levels of a fungal protease.

Aminoácidos	Proteasa en dieta, %				Requerimiento [†] g/d
	0	0.1	0.2	0.3	
Arginina	6.29	6.55	6.85	5.99	3.99
Fenilalanina	4.75	4.95	5.17	4.52	6.27
Histidina	2.95	3.08	3.22	2.81	3.43
Isoleucina	2.64	2.75	2.88	2.52	5.75
Leucina	7.00	7.29	7.62	6.67	11.00
Lisina	8.24	8.59	8.98	7.85	10.45
Metionina	1.78	1.86	1.94	1.70	2.93
Treonina	2.99	3.12	3.26	2.85	6.30
Valina	3.37	3.51	3.67	3.21	7.04

[†] Requerimiento de aminoácidos para cerdos de 30 kg peso vivo, con ganancias diarias de peso y de proteína muscular iguales a 722 y 250 g (NRC, 1998).

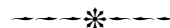
- Cervantes, R. M., G. L. Cromwell, and D. Knabe. 1997. Digestibilidad ileal de aminoácidos en dietas bajas en proteína, complementadas con aminoácidos en cerdos en crecimiento. *Agrociencia* 31: 149-155.
- Cervantes, R. M., J. Gonzalez, N. Torrentera, V. Gonzalez, y M. Cuca. 1999. Ileal amino acid digestibility of low and high protein, grain sorghum-soybean meal diets added with a fungal protease in growing pigs. *Proc. Western Section Amer. Soc. Anim. Sci.* 50: 297-300.
- Cervantes, R. M., J. González, M. Cuca, and N. Torrentera. 2000. Effect of dietary protein level and the addition of a fungal protease on the performance of growing pigs. *Proc. Western Section Amer. Soc. Anim. Sci.* 51: 233-235.
- Chung, T. K., and D. H. Baker. 1992. Ideal amino acid pattern for 10-kilogram pigs. *J. Anim. Sci.* 70:3102-3111.
- Cromwell, G. L. 1996. Synthetic amino acids may improve performance, reduce nitrogen excretion. *Feedstuffs* 68: 49.
- Fan, M. Z., W. C. Sauer, R. T. Hardin, and K. A. Lien. 1994. Determination of apparent ileal amino acid digestibility in pigs: Effect of dietary amino acid level. *J. Anim. Sci.* 72: 2851-2859.
- Hansen, J. A., D. A. Knabe, and K. G. Burgoon. 1993. Amino acid supplementation of low-protein sorghum-SBM diets for 20- to 50-kilogram swine. *J. Anim. Sci.* 71:442-451.
- Hill, F. N., and D. L. Anderson. 1958. Comparison of metabolizable energy and productive energy determination with growing pigs. *J. Nutr.* 64: 587-603.
- Láztity, R., and L. Láztity. 1995. Phytic acid in cereal technology. In: *Advances in Cereal Science and Technology*. Pomeranz, Y. (ed.). Am. Ass. Cereal Chemists. pp: 309-372.
- NRC. 1998. *Nutrient Requirements of Swine* (10th Ed.). National Academy Press. Washington, DC. 183 p.
- Philippe, J. F., D. A. Knabe, and K. Q. Owen. 1992. Low-protein amino acid-supplemented sorghum-based diets for finishing pigs. *J. Anim. Sci.* 70: 235 (Abstr.).
- Reddy, N. R., S. K. Sathé, and D. K. Salunkhe. 1982. Phytates in legumes and cereals. *Adv. Food Res.* 28: 1-92.
- SAS. 1988. *SAS/STAT User's Guide: Statistics*. Release 6.03. SAS Institute, Inc., Cary, NC. 956 p.
- Saunders, R. H., and G. O. Kohler. 1972. In vitro determination of protein digestibility in wheat millfeeds for monogastric animals. *Cereal Chemistry* 49: 98-103.
- Sedgwick, G. W., T. F. Fenton, and J. R. Thompson. 1991. Effect of protein precipitate agents on the recovery of plasma free amino acids. *Can. J. Anim. Sci.* 71: 953-957.

matrix of cellulose, limiting the access of proteases to these proteins (Saunders and Kholers, 1972). Therefore, the protection of these proteins in aleurone blocks the digestion of the proteins by pancreatic, intestinal, and exogenous enzymes. This explains mainly the lack of response to the fungal enzyme. Besides, it suggests that the addition of other enzymes to destroy carbohydrates protecting the proteins in the aleurone (e.g., xylanase, celulase), may help to improve AID of AA in wheat and growth performance of pigs.

CONCLUSIONS

The addition of a fungal protease to low-protein diets, with wheat as a major ingredient and supplemented with crystalline amino acids, does not affect apparent ileal digestibility of amino acids and growth performance of growing pigs.

—End of the English version—



- Simmonds, D. H. 1989. *Wheat and Wheat Quality in Australia*. William Brooks, Queensland, Australia. 425 p.
- Steel, R. G. D., and J. H. Torrie. 1980. *Principles and Procedures of Statistics: A Biomedical Approach* (2nd Ed.). McGraw-Hill Book Co., New York. 622 p.
- Yin, Y. L., J. D. G. McEvoy, H. Shulze, U. Henning, W.-B. Souffrant, and K. J. McCracken. 2000. Apparent digestibility (ileal and overall) of nutrients and endogenous nitrogen losses in growing pigs fed wheat (var. Soissons) or its by-products without or with xylanase supplementation. *Livestock Prod. Sci.* 62: 119-132.
- Zijstra, R. T., C. F. M. de Lange, and J. F. Patience. 1999. Nutritional value of wheat for growing pigs: chemical composition and digestible energy content. *Can. J. Anim. Sci.* 79: 187-194.