

Evaluación del efecto de la adición de butirato sódico a la dieta de broilers en la digestibilidad de la energía y de la proteína de la dieta, los parámetros productivos y el tamaño de los villis intestinales de los animales

J.J. MALLO^{1*}, M. PUYALTO¹, S.V. RAMA RAO²

¹Norel S.A., C/ Jesús Aprendiz, 19. 1º A. 28007, Madrid, España.

² Project Directorate on Poultry, Rajendranagar, Hyderabad 500 030, Andhra Pradesh, India.

* Corresponding author: jjmallo@norel.es

RESUMEN

Con el objetivo de evaluar la influencia que el butirato sódico tiene sobre la digestibilidad de la dieta, se utilizaron un total de 900 pollos broilers Cobb 400 de un día de vida al comienzo de la prueba. Los animales recibieron una alimentación en harina en 3 fases: arranque de 1 a 11 días (52% maíz, 40% soja y 3% palma; 2950 kcal EM, 23% proteína y 1,38% de lisina); crecimiento de 15 a 28 días (56% maíz, 35% soja y 4% palma; 3050 kcal EM, 21% prot y 1,26% de lis) y finalización de 29 a 42 días (60% maíz, 30% soja y 5% palma; 3150 kcal EM, 19% prot y 1,14% de lis). La prueba constó de 3 tratamientos: tratamiento control (sin aditivos); tratamiento BUT 0,5 (0,5 kg/t de butirato sódico) y tratamiento BUT 1 (1 kg/t de butirato sódico). Cada tratamiento se replicó 12 veces, y cada réplica estuvo formada por 25 animales al comienzo de la prueba. El peso de los animales y el consumo de pienso se controló en cada fase. Además, se evaluó la digestibilidad de la energía y de la proteína de la dieta durante los días 40 a 42, siguiendo la metodología de colecta total de ingesta y excreta, y, en los días 21 y 42 se tomaron muestras de íleon de un animal sano de cada réplica para evaluar longitud y anchura de los villis intestinales. No hubo diferencias estadísticamente significativas en los parámetros zootécnicos: al final de la prueba, los crecimientos fueron 47,7 g/día para el control, 48,0 g/día para el BUT 0,5 y 48,6 g/día para el BUT 1 (P 0,47), el consumo 81,7 g/día para el control, 81,6 g/día para el BUT 0,5 y 83,6 g/día para el BUT 1 (P 0,56) y los índices de conversión fueron de 1,71 para el control, 1,72 para BUT 0,5 y 1,72 para BUT 1 (P 0,91). Sin embargo, las digestibilidades de la proteína y de la energía sí que se vieron influenciadas por la adición de butirato a la dieta: La energía digestible de la dieta de crecimiento fue de 3105 kcal, por 3264 del tratamiento BUT 0,5 y 3285 del BUT 1 (P <0,001); La digestibilidad de la proteína fue de un 64,69 en la dieta control, por 65,81 en la dieta BUT 0,5 y 67,70 en la dieta BUT 1 (P <0,001). Las longitudes y anchuras de los villis se vieron influenciadas por la adición de butirato en la dieta, así a día 21, las longitudes fueron de 0,977; 1,516 y 1,243 mm para control, BUT 0,5 y BUT 1 (P <0,001), y las anchuras de 224,7; 260,8 y 197,7 micras respectivamente (P 0,1370); y, a día 42, las longitudes fueron de 0,944; 1,314 y 1,116 mm para control, BUT 0,5 y BUT 1 (P 0,068), y las anchuras fueron 138,5; 314,2 y 317,2 micras respectivamente (P <0,001). Se concluye que la inclusión de butirato en la dieta mejora la digestibilidad de la energía y de la proteína por una mayor superficie de absorción intestinal.

ABSTRACT

A total of 900 Cobb 400 one day old broiler chickens were used to evaluate the influence of sodium butyrate has on the animal performance, energy and protein digestibility of the diet and villi development. The animals followed a 3 phase feeding program with mash diets: starter, from 1 to 14 days (52% corn, 40% soya and 3% palm; EM 2950 kcal, 23% protein and 1.38% lysine), grower from 15 to 28 days (56% corn, 35% soya and 4% palm; EM 3050 kcal, 21% protein and 1.26% lysine) and finisher from 29 to 42 days (60% corn, 30% soya and 5% palm; 3150 kcal ME, 19% protein and 1.14% lysine). The trial evaluated 3 treatments: control treatment (no additives), treatment BUT 0.5 (0.5

kg/t of 92% sodium butyrate) and treatment BUT 1 (1 kg/t of 92% sodium butyrate). Each treatment was replicated 12 times and each replicate consisted of 25 animals at the start of the test. The animal weight and feed intake was controlled every two weeks (change of phase). In addition, dietary energy and protein digestibility was evaluated from day 40 to day 42, by the total collection of excreta (and control of ingestion) methodology; On days 21 and 42 ileum samples were taken from a healthy animal from every replica to assess the length and width of intestinal villi. There were no statistically significant differences in the zootechnical parameters: at the end of the trial, the average daily gains were 47.7 g/day for control, 48.0 g/day for BUT 0.5 and 48.6 g/day for BUT 1 ($P < 0.47$), average daily feed intake was 81.7 g/day for control, 81.6 g/day for BUT 0.5 and 83.6 g/day for BUT 1 ($P < 0.56$) and feed conversion ratios were 1.71 for control, 1.72 for BUT 0.5 and 1.72 for BUT 1 ($P < 0.91$). However, the digestibility of protein and energy were influenced by the addition of butyrate in the diet: The digestible energy for the growth diet in the control treatment was 3105 kcal, for BUT 0.5 3264 kcal and for BUT 1 3285 kcal ($P < 0.001$); the digestibility of the protein was a 64.69 % in the control diet, 65.81 % in the BUT 0.5 and 67.70 % in the BUT 1 grower diet ($P < 0.001$). The lengths and widths of the villi were also affected by the addition of butyrate in the diet and at day 21, the lengths were 0.977, 1.516 and 1.243 mm for control, BUT 0.5 and BUT 1 respectively ($P < 0.001$), and the widths 224.7, 260.8 and 197.7 microns ($P < 0.1370$); at day 42, the lengths were 0.944, 1.314 and 1.116 mm for control, BUT 0.5 and BUT 1 ($P < 0.068$), and the widths were 138.5, 314.2 and 317.2 microns respectively ($P < 0.001$). It is concluded that inclusion of butyrate in the diet improves the digestibility of energy and protein by increasing intestinal absorption surface.

Keywords: Butirato; Digestibilidad; Longitud vellosidades; Broiler.

INTRODUCCIÓN

El butirato sódico es una materia prima con demostrados efectos bactericidas (tanto contra gram- (Fernández-Rubio, 2009) como contra gram+ (Jerzsele, 2011) si se refuerza con aceites esenciales) y fisiológicos en el animal (Guilloteau, 2010). Los efectos en el animal se pueden resumir, por tanto, en control de la barrera intestinal, reducción de patógenos, aumento de síntesis de mucina, regulación de la respuesta inmune, y efectos en el epitelio intestinal: controlando la apoptosis celular (reduciendo la degradación de células normales y aumentando la de las células malignas), fuente de energía para los colonocitos y enterocitos (en forma de ATP) y dirigiendo la proliferación, diferenciación y maduración de las células intestinales (Guilloteau, 2010).

El mejor desarrollo del epitelio intestinal hace que haya una mayor superficie intestinal, que podrá estar en contacto con el alimento y que hará que este se digiera en mayor medida (Pluske, 1996). De esta manera, el uso de butirato sódico en pollos broilers dará lugar a animales con un epitelio intestinal bien desarrollado que hace que puedan digerir mejor el alimento que reciben. Esta mejora de la digestibilidad de la dieta explicaría la reducción de índices de conversión que suele observar con el uso de butirato sódico ((Mallo, 2010).

MATERIAL Y MÉTODOS

Animales y manejo: 750 broilers Cobb 400 de un día de edad se distribuyeron aleatoriamente en 30 grupos de 25 animales cada uno (10 réplicas por tratamiento). Los animales fueron identificados por grupos con bandas en las alas y se alojaron en jaulas en batería con base enrejillada de acero. La temperatura de la nave se mantuvo en $35 \pm 0.5^\circ\text{C}$ hasta los 7 días de vida, y se fue bajando gradualmente hasta los $27 \pm 1^\circ\text{C}$ a los 21 días de edad, tras lo cual, los animales se mantuvieron a temperatura ambiente ($25\text{-}33^\circ\text{C}$). Los animales fueron vacunados contra Newcastle y enfermedades infecciosas de la bursa según agenda de vacunaciones habitual.

Dietas: Se administraron dietas basadas en maíz y soja con valores de energía metabolizable de 2950, 3050 y 3150 kcal y 230, 210 y 190 g proteína bruta/kg, respectivamente durante las fases pre-starter (1-11d), starter (12-21 d) y finalización (22-42 d) (Tabla 1). La concentración de lisina, metionina y treonina también se dan en la Tabla 1. Estas dietas fueron suplementadas con butirato sódico (BUT) (Gustor, Norel Animal Nutrition, España) a 3 concentraciones: 0, 500 and 1000 mg/kg dieta. Cada dieta se suministró *ad libitum* a 10 replicas de 25 animales por replica asignados siguiendo un diseño completamente aleatorio.

Parámetros evaluados

Desarrollo: Se tomaron medidas de peso y consumo por réplica semanalmente hasta los 42 días de edad. Con estos datos se calculó el crecimiento medio diario, el consumo medio diario y el índice de conversión de cada réplica.

Resultados de matadero: A los 42 días de edad, se seleccionó un animal de cada réplica, elegido de manera que tuviese el peso medio de su grupo ($\pm 5\%$), y se sacrificó por dislocación cervical para evaluar los resultados de matadero. Se tomaron los datos de peso de canal, rendimiento (con hígado, molleja y corazón), peso de pechuga, peso de hígado y molleja y grasa abdominal, y se expresaron como porcentaje del peso anterior al sacrificio de ese animal.

Digestibilidad de Energía y Proteína: Se llevó a cabo una prueba de digestibilidad entre los días 40 y 42. Se extrajeron un total de 36 animales de 12 réplicas al azar (3 animales por réplica; 4 réplicas por tratamiento), y se alojaron en jaulas metabólicas tras control de peso y consumo. Para la evaluación de la digestibilidad de la energía y de la proteína, se anotó la materia seca del consumo total de pienso (consumo) y la materia seca excretada (excreta) por jaula. Se evaluó la concentración energética de las muestras de pienso y excreta (bomba calorimétrica) y la proteína bruta (AOAC, 2005). La diferencia entre consumo y excreta se utilizó para calcular la retención de energía y proteína.

Crecimiento de villi intestinales: El desarrollo de los villi se cuantificó por microscopía electrónica (SEM) siguiendo la metodología descrita por John *et al.* (1998). El procedimiento incluye una muestra de 5 mm² del asa duodenal (muestreados a día 21 y 42 de edad) y fijada con 2.5% glutaraldehído en buffer fosfato 0.1 M (pH 7.2) durante 24 h a 4 °C y post fijación en una solución al 2% de tetraóxido osmium acuoso durante 4 h. El tejido se deshidrató en diluciones graduadas de alcohol, y se secó hasta el punto crítico de medida con CPD. Las muestras procesadas se montaron con cinta de conductividad de carbon de doble cara y se recubrieron con una fina lamina de oro con un encapsulador automático (model JEOL – JFC-1600) en 3 minutos. Las muestras se escanearon con un Microscopio Electrónico de Escaneado (model: JOEL-JSM 5600).

Análisis estadístico: Se analizó la varianza de los datos siguiendo un diseño completamente aleatorio (Snedecor y Cochran, 1989). Los tratamientos se compararon por medio de un test de rangos múltiples de Duncan (Duncan, 1955), fijando la significancia en $P < 0.05$.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Datos productivos: La tabla 2 muestra los resultados de peso, crecimiento, consumo e índice de conversión de los animales. Los datos productivos no se vieron afectados por el uso de butirato sódico en la dieta.

Parámetros de matadero: De la misma manera, el butirato sódico tampoco afectó a los parámetros de matadero, como puede observarse en la tabla 3.

Digestibilidades: La suplementación de butirato sódico, en ambas cantidades, aumentó significativamente la retención de la energía por parte de los animales (Tabla 4), pero el butirato sódico no produjo un efecto lineal, al no haber diferencias entre los niveles de inclusión de la sal del ácido orgánico. De la misma manera, la retención de la proteína también fue mejor en los animales que recibían butirato sódico en la dieta; en este caso, sí que hubo diferencias entre los niveles de butirato de la ración: la digestibilidad de la proteína fue más elevada en los animales que recibían 1000 mg de butirato sódico por kilo de ración que los que recibían 500 mg/kg.

Desarrollo del epitelio intestinal: La influencia del butirato sódico en el desarrollo del epitelio intestinal se puede evaluar estudiando los datos de la tabla 4 y observando las figuras 1, 2 y 3. El butirato sódico hizo que la longitud de las vellosidades intestinales a los 21 días de vida fuese mayor ($P < 0.05$). De la misma manera, la anchura de las vellosidades a los 42 días de vida fue mayor en los animales que recibían el butirato sódico en la dieta ($P < 0.05$). La anchura de las vellosidades a los 21 días de vida, sin embargo, no se vio afectada por el uso de butirato en la ración, ni lo fue la longitud de las vellosidades

a los 42 días de vida. La longitud de las vellosidades a día 21 presentaron unos resultados similares a los de la digestibilidad de la proteína, se observaron diferencias entre los diferentes niveles de butirato sódico utilizados, las vellosidades fueron menores en los animales que recibieron 500 mg de butirato sódico/kg de pienso, La anchura de las vellosidades a los 42 días de edad no se vió afectada por el nivel de butirato en la dieta.

Según los resultados observados, se puede concluir que la suplementación de la dieta de broilers con 500 o 1000 mg/kg de pienso, pese a no mejorar los parámetros productivos estadísticamente, puede mejorar la digestibilidad de la energía y de la proteína de la dieta, probablemente por la mayor longitud de las vellosidades intestinales de los animales (21 días de vida) y su mayor anchura (42 días de vida).

Tabla 1. Composición de las dietas experimentales

Ingredientes (kg/tonelada)	Pre-starter	Starter	Finisher
	Edad, d	1-11	12-21
Maíz	521.3	564.8	608.2
Harina de soja	407.4	355.3	303.2
Aceite de palma	30.7	38.9	47.1
Sal	4.5	4.5	4.5
Fosfato dicálcico	18.9	19.2	19.63
Conchilla moluscos	7.2	7.46	7.75
DL metionina	2.41	2.15	1.89
L lisina	1.23	1.44	1.64
Threonina	1.73	1.61	1.5
Premix ^a	5	5	5
Energía Metabolizable ^c , kcal/kg	2950	3050	3150
Proteína Bruta ^b , %	23	21	19
Lisine ^c , %	1.38	1.26	1.14
Metionina ^c , %	0.575	0.525	0.475
Treonina ^c , %	0.925	0.844	0.764
Calcio ^c , %	0.9	0.9	0.9
P no fítico ^c , %	0.45	0.45	0.45

^a composición del Premix (mg kg⁻¹ dieta): tiamina 1; piridoxina, 2; cianocobalamina, 0.01; niacina, 15; ácido pantoténico, 10; α - tocoferol, 10; riboflavina, 10; biotina, 0.08; menadiona, 2; acetato de retinol, 2.75; colecalciferol, 0.03; colina, 650; cobre, 8; hierro, 45; manganeso, 80; zinc, 60; selenio, 0.18; monensin sodica, 100; y aluminio silicatos sodico cálcicos hidratados, 800

^b Valores analizados

^c Calculados según valores analizados de los ingredientes individuales; EM está basada en los valores publicados por el NRC (NRC, 1994)

Tabla 2. Datos productivos de animales broilers alimentados con dietas suplementadas con diferentes niveles de butirato sódico

Tratamiento	21 días			42 días		
	Crecimiento, g	Consumo, g	IC	Crecimiento, g	Consumo, g	IC
Control	639.1	896.7	1.40	2004	3432	1.71
C+But 0.5 g/kg	640.9	899.4	1.41	2018	3427	1.72
C+But 1.0 g/kg	664.4	918.7	1.39	2040	3510	1.72
P	0.346	0.478	0.567	0.474	0.568	0.915
N	10	10	10	10	10	10
SEM	7.77	7.88	0.008	17.81	30.99	0.008

Tabla 3. Resultados del matadero de animales broilers alimentados con dietas suplementadas con diferentes niveles de butirato sódico (%)

Tratamiento	Rendimiento de canal	Grasa abdominal	Pechuga	Hígado	Molleja	Bazo	Bursa
Control	74.50	2.11	19.36	2.31	1.86	0.15	0.17
C+But 0.5 g/kg	72.82	2.15	20.00	2.41	1.71	0.14	0.19
C+But 1.0 g/kg	74.00	2.18	19.51	2.29	1.74	0.19	0.21
P	0.18	0.96	0.69	0.66	0.46	0.23	0.34
N	10	10	10	10	10	10	10
SEM	0.38	0.08	0.30	0.05	0.07	0.01	0.01

Tabla 4. Digestibilidad de energía y proteína de las dietas de finalización de animales broilers alimentados con dietas suplementadas con diferentes niveles de butirato sódico; Desarrollo de vellosidades intestinales a días 21 y 42 de vida

Tratamiento	Energía	Proteína	Vellosidades # 21d		Vellosidades # 42d	
	kcal/kg	%	Longitud, mm	Anchura, μ m	Longitud, mm	Anchura, μ m
Control	3105 ^B	64.69 ^C	0.977 ^C	224.7	0.944	138.5 ^B
C+But 0.5 g/kg	3264 ^A	65.81 ^B	1.516 ^A	260.8	1.314	314.2 ^A
C+But 1.0 g/kg	3285 ^A	67.70 ^A	1.243 ^B	197.7	1.116	317.2 ^A
P	0.001	0.001	0.001	0.137	0.068	0.001
N	4	4	6	6	6	6
SEM	22.117	0.336	0.0597	12.71	0.0657	22.24

Protocolo de medida de Microscópio Electrónico de Barrido (SEM)

Figura 1. Corte transversal de duodeno de animal de tratamiento Control a 42 días de edad

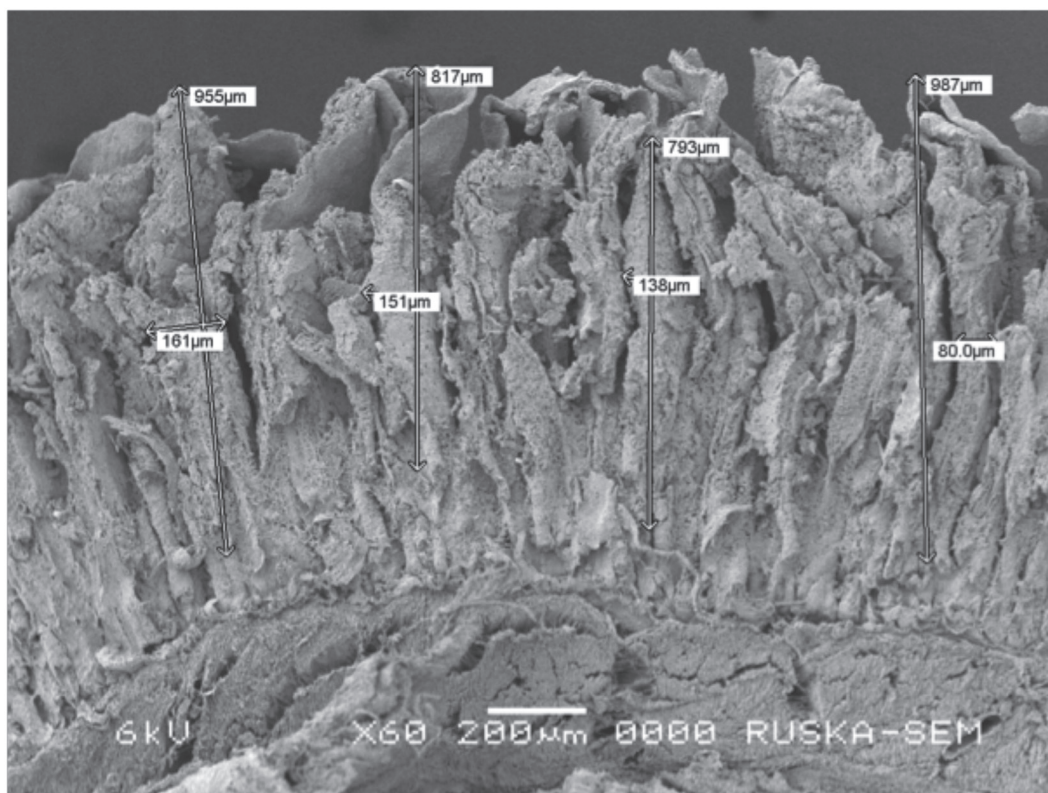


Figura 2. Corte transversal de duodeno de animal de tratamiento BUT 0,5 a 42 días de edad

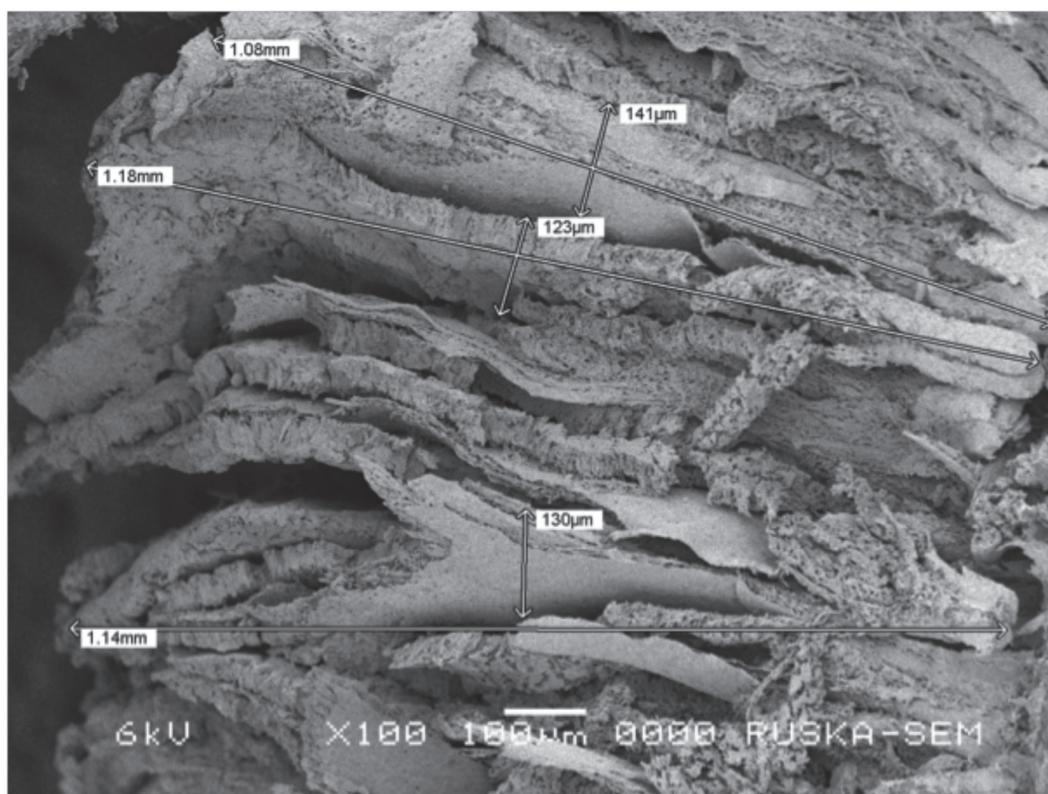
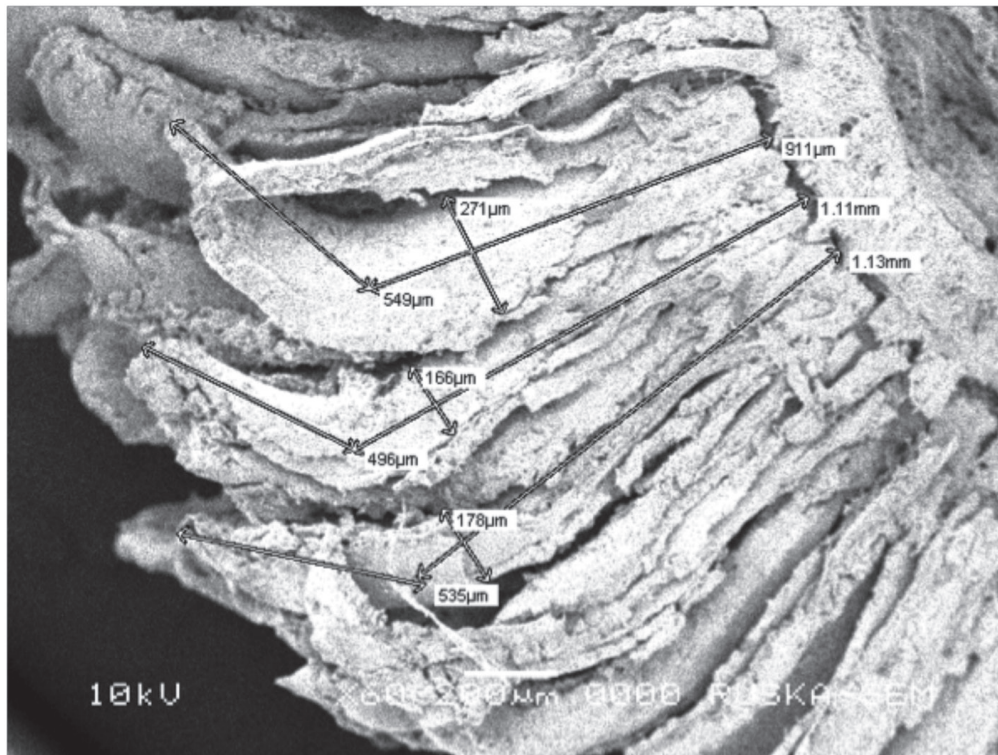


Figura 3. Corte transversal de duodeno de animal de tratamiento BUT 1 a 42 días de edad



REFERENCIAS

FERNÁNDEZ-RUBIO C., ORDÓÑEZ C., ABAD-GONZÁLEZ J., GARCÍA-GALLEGO A., HONRUBIA M.P., MALLO J.J., BALAÑA-FOUCE R. (2009) Butyric acid-based feed additives help protect broiler chickens from Salmonella Enteritidis infection. *Poultry Science*, 88: 943-948.

JERZSELE Á, SZEKÉR K., GÁLFI P., PUYALTO M., HONRUBIA P., MALLO J.J. (2011) Effects of protected sodium-n-butyrate (BP70), its combination with essential oils (BP70+EO), and of a *Bacillus amyloliquefaciens* probiotic (Ecobiol) in a necrotic enteritis artificial infection model in broilers. *International Poultry Scientific Forum Abstract* 42731.

GILLOTEAU P., MARTIN L., EECKHAUT V., DUCATELLE R., ZABIELSKI R., VAN IMMERSEEL F. (2010) From the gut to the peripheral tissue: the multiple effects of butyrate. *Nutrition Research Reviews*, 23: 366-384.

PLUSKE, J.R., THOMPSON, M.J., ATWOOD, C.S., BIRD, P.H., WILLIAMS, I.H. AND HARTMANN, P.E. (1996) Maintenance of villus height and crypt depth, and enhancement of disaccharide digestion and monosaccharide absorption, in piglets fed on cows' whole milk after weaning. *British Journal of Nutrition*, 76 (3). pp. 409-422.

MALLO J.J., GRACIA M.I., SÁNCHEZ J., HONRUBIA P., PUYALTO M. (2010) Effect of butyrate on broiler performance. *XIIIth European Poultry Conference*, S9- Nutrition Digestion.