



Universidad Nacional Autónoma de México.

**Programa de Maestría y Doctorado en Ciencias de la Producción y de la
Salud Animal.**

**Uso de diferentes enzimas en la alimentación de lechones destetados y
sus repercusiones en crecimiento y salud intestinal.**

TESIS

Que para optar por el grado de

Maestro en Ciencias de la Producción y de la Salud Animal.

PRESENTA

Cristina Rodríguez Rodríguez.

Tutor principal

José Antonio Cuarón Ibarguengoytia.
Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, UNAM.

Miembros del comité tutor

Susana E. Mendoza Elvira.
Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, UNAM.

Luis Corona Gochi.
Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM.

**Facultad de Estudios Superiores, Cuautitlán, UNAM.
Cuautitlán, Edo. Méx., 2021.**



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

DEDICATORIA

A MIS PADRES:

JUAN y GRACIELA

Los amo.

AGRADECIMIENTOS

- A mí Tutor, el *Dr. José Antonio Cuarón Ibarquengoytia*.
- A los miembros de mi comité tutorial, la *Dra. Susana E. Mendoza Elvira* y el *Dr. Luis Corona Gochi*.
- A el *Dr. José Abel Ciprian Carrasco*, por su desinteresada participación y aportaciones.
- A el *Dr. Gerardo Mariscal Landín*, por permitirme trabajar en la Unidad Metabólica y sus aportaciones en la revisión de este trabajo.
- A la *MC. María Alejandra Pérez Alvarado*, por su guía y carisma.
- A mi esposo *Luis Liborio*, por su apoyo absoluto.
- A mi hermano *Juan Pablo*, su esposa *Laura Janeth* y su hermosa hija *Katia Isabella*, siempre pendientes de mí.
- A todos mis compañeros, en particular a *Diego Guerrero, Fabian Fridstein, Enrique Mandujano, Claudia García, Jesús Maguey y Enrique Castañeda*, por su amistad.
- A el *MC. Jorge Cervantes*, por su apoyo durante mi formación.
- A el *MC. Jorge Gabriel*, que me mostró el camino para la maestría. Sin usted no habría llegado aquí.
- A la *Universidad Nacional Autónoma de México*, por la oportunidad de ser parte de esta gran casa de estudios.
- Al *Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Fisiología y Mejoramiento Animal, INIFAP*. Por el uso de sus instalaciones.
- A *DSM México*, por el apoyo financiero.

ÍNDICE GENERAL

Contenido	página
DEDICATORIA	i
ÍNDICE GENERAL	iii
ÍNDICE DE FIGURAS	vvi
ÍNDICE DE CUADROS	vivii
RESUMEN	viiiviii
ABSTRACT	viiiix
INTRODUCCIÓN	1
1. REVISIÓN DE LITERATURA	4
1.1 Destete	4
1.2 Consumo voluntario de alimento	4
1.3 Desarrollo de la actividad enzimática endógena del lechón	7
1.4 Enzimas	10
1.5 Clasificación de las Enzimas endógenas.	11
1.6 Nomenclatura	11
1.7 Enzimas exógenas.	12
1.8 Otras enzimas	13
1.8.1 Muramidasa	13
1.9 Capacidad de irritación de los alimentos	14
1.10 Costo de la inflamación y la activación del sistema inmune	15
2. JUSTIFICACIÓN	16
3. HIPÓTESIS	17
4. OBJETIVOS	17
5. MATERIAL Y MÉTODOS	18
5.1 Sitio experimental	18
5.2 Variables productivas	19
5.3 Manejo	20

5.4 Alimento	23
5.8 Análisis de muestras	23
5.5 Experimento 1	24
5.6 Experimento 2	28
5.7 Experimento tres	33
6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	35
6.1 Experimento 1	35
6.2 Experimento 2	44
6.3 Experimento 3	51
7. CONCLUSIONES E IMPLICACIONES.	54
8. BIBLIOGRAFÍA	55
9. ANEXOS	66

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Consumo de Energía Metabolizable en Kcal/kg ^{0.75} /d en lechones; antes y después del destete.	5
Figura 2. Porcentaje de lechones que no consumieron alimento después del destete.	6
Figura 3. Cambios en el peso promedio del azúcar hidrolizado por kilogramo de peso corporal.	7
Figura 4. Actividad enzimática de lipasa y amilasa, en lechones a partir del destete, hasta la 8 ^o semana de vida.	9
Figura 5. Cambios de la secreción enzimática en las primeras semanas de vida del cerdo.	10
Figura 6. Cadenas alternantes de N-acetilmurámico y N-acetilglucosamina	13
Figura 7. Representación esquemática de la pared celular bacteriana. Peptidoglucano.	14
Figura 8. Escala subjetiva para la calificación de la consistencia de heces.	20
Figura 9. A) Peso corporal promedio por corral en función de la edad y por categorías de peso al inicio del experimento. B) Desviación estándar por corral en función de la edad en días por categoría de peso.	42
Figura 10. A) Distribución segregada por categoría de peso corporal al destete. B) Distribución por categoría del peso corporal al día 42 posdestete.	43
Figura 11. Prevalencia de diarrea.	48
Figura 12. Esquema del uso de la energía.	53

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Dietas experimentales. Exp. 1.	25
Cuadro 2. Análisis calculado de algunos nutrientes en las dietas basales experimentales, por Fase de alimentación.	26
Cuadro 3. Dietas basales experimentales. Exp. 2 y 3.	30
Cuadro 4. Análisis calculado de algunos nutrientes en las dietas basales experimentales, por Fase de alimentación.	31
Cuadro 5. Comportamiento productivo de lechones destetados.	37
Cuadro 6. Comportamiento productivo de lechones en función a su peso.	40
Cuadro 7. Comportamiento productivo acumulado de lechones, a 21 y 42 días posdestete.	46
Cuadro 8. Energía Neta.	53

RESUMEN

Se condujeron tres experimentos, donde se evaluó el comportamiento productivo de lechones al destete en respuesta a la adición de diversas actividades enzimáticas exógenas en la dieta, se evaluó la incidencia de diarreas y se determinó el metabolismo de la energía en cerdos, conforme un Diseño de Bloques Completos al Azar. En el Exp 1 se usaron 552 cerdos de 6.1 ± 1.36 kg y 20 ± 0.83 d. Los Tratamientos fueron el arreglo factorial de dos niveles de α -Amilasa, Serina-Proteasa, β -Glucanasa, Pectinasa y Hemicelulasa (EEX) y dos de pasta de soya (SOY) para obtener un total de cuatro Tratamientos. En el Exp 2 se usaron 588 lechones, durante 42 días posdestete de 24 ± 1.5 d y 6.6 ± 1.26 kg. Los Tratamientos fueron: 1) dieta basal sin antibióticos (CN); 2) CN+0.440 kg/Tm de Muramidasa (M35); 3) CN+0.620 kg/Tm de Muramidasa (M50); 4) CN+antibióticos, todos los Tratamientos tenían EEX. En el Exp 3, se usaron 32 machos castrados provenientes del experimento 2, de 31.9 ± 3.68 kg y 82 ± 9.8 d, durante 11d. Los Tratamientos fueron dos; CN y M50. En el Exp. 1, los lechones con las dietas EEX ganaron más peso ($P < 0.02$) y fueron más eficientes ($P < 0.07$). Exp. 2, la dieta Control Negativo (CN) fue inferior a M35 y M50 en consumo ($P < 0.03$) y ganancia de peso ($P < 0.04$). En el Exp 3, la Energía Neta fue más alta en los cerdos que consumieron M50 en la dieta ($P < 0.07$). La adición de EEX dio una ventaja temporal (7d) y con M35 y M50 se mejoró el consumo y la ganancia diaria de peso al tiempo de disminuir las diarreas, lo que es congruente con la eficiencia de utilización de la energía.

Palabras clave: cerdos, enzimas exógenas, Muramidasa.

ABSTRACT

Productive performance, incidence of diarrhea and metabolism of the energy were evaluated in three experiments, with the addition of various exogenous enzymes, according to a Random Complete Block Design. In Exp 1, 552 pigs were used for 42 days post-weaning, the average age and weight was 6.1 ± 1.36 kg and 20 ± 0.83 d, Treatments resulting from the addition or not of an α -Amylase, Serine-Protease, β -Glucanase, Pectinase and Hemicellulase (EEX), and two strategies of inclusion of Soybean meal in the diet (SOY), the Treatments were four. In Exp 2, 588 piglets were used for 42 days after weaning. The average age and weight was 24 ± 1.5 d and 6.6 ± 1.26 kg. The Treatments were four: 1) basal diet without antibiotics (NC); 2) NC+0.440 kg/ Mt of Muramidase (M35); 3) NC+0.620 kg/ Mt of Muramidase (M50); 4) NC+antibiotics (PC) all Treatments had EEX. In Exp 3, 32 males from experiment two were used, weight and age were 31.9 ± 3.68 kg and 82 ± 9.8 d, during 11d. The Treatments were two; NC and M50. In Exp 1, the piglets that consumed the diet with enzymes gained more weight ($P < 0.02$), and were more efficient ($P < 0.07$). In Exp 2, differences were found due to the Treatment effect ($P < 0.01$); NC was lower than M35 and M50 in average daily feed intake ($P < 0.03$) and average daily gain ($P < 0.04$). In Exp 3, Net Energy was higher in the pigs that consumed M50 in the diet ($P < 0.07$). The addition of EEX gave a temporary advantage (7d) in feed intake and body weight gain, with M35 and M50 in the diet improved feed intake at the time of decrease prevalence of diarrhea, which is consistent with the efficient of energy utilization.

Keywords: *pigs, exogenous enzymes, Muramidase*

INTRODUCCIÓN

El destete es uno de los eventos de estrés más críticos en la vida de los cerdos por la separación de los lechones de su madre y la necesidad de suplir su nutrición con medios diferentes a la leche materna (Williams, 2003). La leche, contiene alrededor de 20% de materia seca, que a su vez se compone del 40% de grasa (altamente digestible), 25% de lactosa y no contiene almidón; en cambio, el alimento sólido es una mezcla de proteínas de origen animal y vegetal, polisacáridos no amiláceos, compuestos antinutricionales y almidón proveniente principalmente de granos de cereales que contienen aproximadamente 90% de materia seca (Mavromichalis, 2006). El cambio a un nuevo alimento, con base en almidón (granos de cereales), proteínas complejas de origen vegetal (pasta de soya), polisacáridos no amiláceos y compuestos antinutricionales como los fitatos, tienen como consecuencia un bajo consumo de alimento (Wilson y Leibholz, 1981; Pluske *et al*, 1997; Williams, 2003), situación que complica la maduración digestiva, al ser la presencia de alimento un factor que promueve el desarrollo de la mucosa intestinal y estimula la producción de enzimas digestivas propias del animal (Kelly *et al*, 1991; Núñez *et al*, 1996; Pluske *et al*, 1997). Se ha estimado que solo la mitad de los cerdos consumen alimento dentro de las primeras 8 horas posteriores al destete y un 10% no consumen nada hasta después de las 48 horas (Brooks *et al*, 2001; Bruinix, *et al*, 2002), siendo los lechones pequeños o aquellos con un menor aporte de leche los mejor preparados al destete (Bruinix *et al*, 2002) debido a la necesidad de una fuente de alimentación adicional durante lactación.

Con el cambio de sustratos, el lechón queda expuesto a una variedad nueva de antígenos dietarios y ambientales, lo que demanda la adaptación fisiológica del animal a la composición de la dieta (Howard y Yudkin 1963; Corring *et al*, 1978; Desnuelle *et al*, 1992). Al mismo

tiempo, el sistema inmune gastrointestinal lleva a cabo la presentación, diferenciación y procesamiento de antígenos dietarios y un fallo en este sistema induce la activación del sistema inmune innato (Duchmann *et al*, 1997); activación, que tiene un costo energético (Suradhat, 2006) y compromete el crecimiento de los lechones, al redistribuir la energía originalmente destinada para el crecimiento a los mecanismo de mantenimiento y defensa (Koong *et al*, 2018).

Una forma de complementar la insuficiencia endógena es con la adición de actividades enzimáticas exógenas (de Lange *et al*, 2010; Adeola y Cowieson, 2011). Actualmente existe una gran cantidad de complejos enzimáticos que en lechones al destete, se justifica su uso para complementar su incapacidad digestiva (Kim *et al*, 2001; Adeola y Cowieson, 2011), mejorar la digestibilidad de nutrientes (Bedford y Schulze, 1998) favorecer el comportamiento productivo (Zuo *et al*, 2015; Jones *et al*, 2018), y aportar beneficios en salud intestinal (Yi *et al*, 2013) al tiempo de reducir los sustratos que podrían fomentar el crecimiento de bacterias patógenas (Montagne *et al*, 2004; Brufau, 2014). Por ejemplo, la α -amilasa hace posible la hidrólisis del almidón, que de no ser digerido se convertiría en una de las principales causas de la pérdida de estabilidad osmótica en el intestino, dando origen al fenómeno de diarrea (Kim *et al*, 2008; Heo *et al*, 2012). Las Carbohidrasas favorecen la reducción de la viscosidad de la digesta en el intestino delgado, por la hidrólisis de polisacáridos no amiláceos (Vahjen *et al*, 2007; Kim *et al*, 2012). La adición de proteasas puede contribuir con la reducción de metabolitos nitrogenados (nitrógeno amoniacal y aminas biogénicas) asociados a la irritación de membranas, que están en función de la proteína no digerida de la dieta (Kim *et al*, 2012; Heo *et al*, 2009). La adición de fitasa se justifica por la presencia de fitatos existentes en los ingredientes de origen vegetal, que por

su capacidad de quelación forman complejos insolubles con minerales de carga positiva y proteínas, lo que interfiere en su absorción. (Cromwel *et al*, 1992; Adeola *et al*, 1995).

Por otro lado, recientemente se ha identificado una Muramidasa que podría restar importancia a los restos de la pared celular de las bacterias en el intestino (Cohn *et al*, 2018). Muramidasa es una enzima que hidroliza el enlace β -1,4 entre el ácido N-acetilmurámico y N-acetilglucosamina de los restos o fracciones del peptidoglucano (Lichtenberg *et al*, 2017); componente estructural de la pared celular bacteriana (Jollès y Jollès, 1984; Fleming, 1922), que en el animal, induce la estimulación del sistema inmune al actuar como un antígeno (Dziarski, 1991; Kimpe *et al*, 1995).

El trabajo que se presenta a continuación se condujo con la hipótesis general de que la adición de diversas enzimas exógenas con actividades complementarias como: α -Amilasa, Proteasa, β -Glucanasa, Hemicelulasa, Pectinasa, Fitasa y Muramidasa, podrían mitigar el impacto de los antígenos de origen alimentario que además de ser indigestibles para el lechón tienen efectos potenciales de irritación, provocando desafíos en el periodo de transición que representa el destete.

1. REVISIÓN DE LITERATURA

1.1 Destete

El destete, es considerado un punto crítico en la vida de los cerdos, principalmente por la separación de los lechones de la madre, la adaptación a un nuevo ambiente e instalaciones, el establecimientos de jerarquías con lechones diferentes a los de su camada de origen y el cambio de la leche materna por un alimento sólido (Hampson y Langford, 1986; Pluske, 1997). Esta confluencia de factores provoca que los lechones se enfrenten a un estrés social y ambiental con efectos en el patrón de consumo de alimento, que resulta en pérdidas de peso, cambios morfológicos, metabólicos y endócrinos en el lechón (Le Dividich y Sève, 2000; Heo *et al*, 2012).

1.2 Consumo voluntario de alimento

El consumo voluntario de alimento al momento del destete, y durante la primera semana posdestete, es complicado para el animal (Bark *et al*, 1986). Los eventos de estrés por los que está pasando el lechón, más la baja capacidad de consumo limitan a los cerdos para alcanzar los niveles de energía consumidos antes de ser destetados (Pluske *et al*, 1997). En la Figura 1, se presenta el consumo de alimento de los lechones antes y después del destete, donde es claro que el evento del destete suele ir acompañado de la baja ingesta de alimento, y los lechones están lejos de alcanzar el consumo de Energía Metabolizable por kcal de peso metabólico que estaban consumiendo antes de ser destetados, lo que les lleva entre 14 y 21 días posdestete (Noblet y Étienne, 1986; Le Dividich y Herpin, 1994).

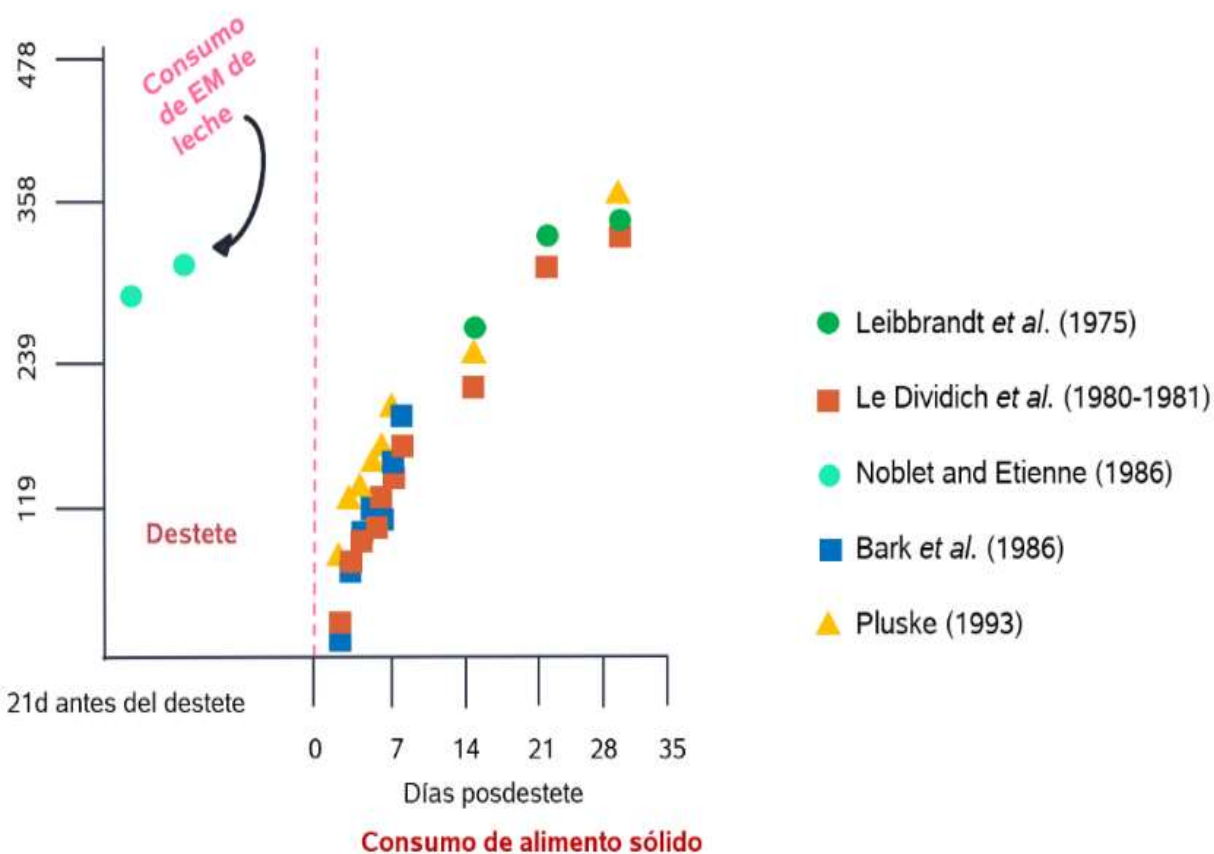
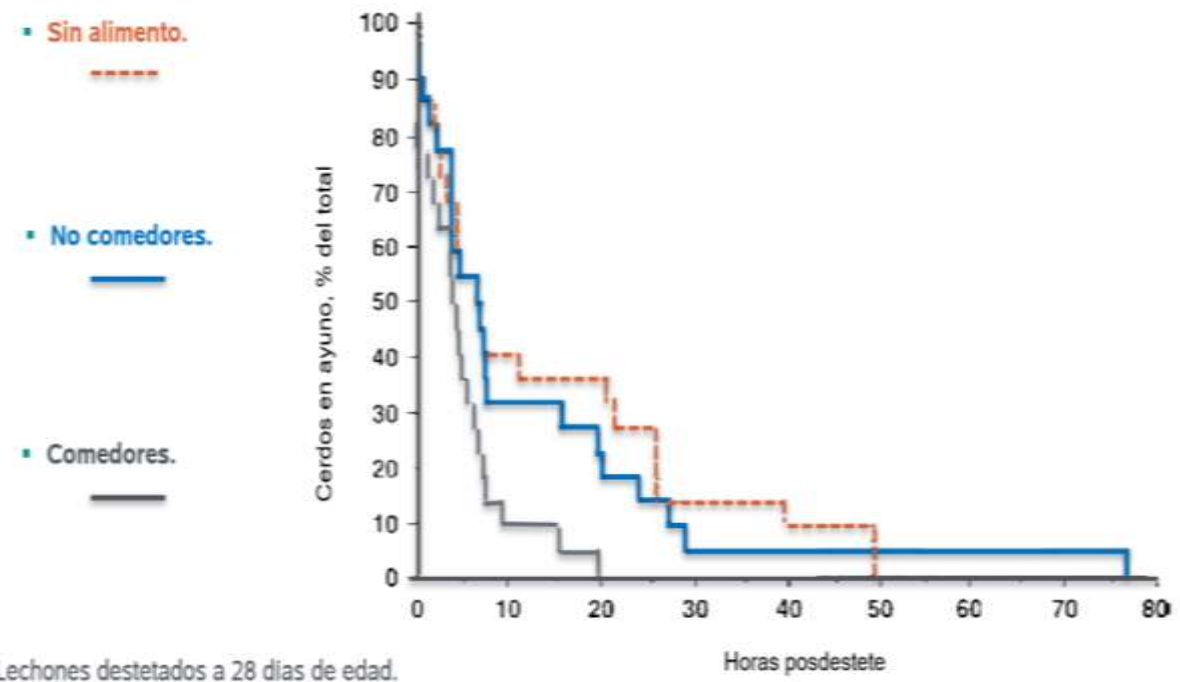


Figura 1. Consumo de Energía Metabolizable en kcal/kg^{0.75}/d en lechones; antes y después del destete. Modificada de Le Dividich y Herpin (1994).

Los lechones entran en una condición de ayuno, también conocida como anorexia transitoria (Brooks *et al*, 2001), que podemos observar con mayor precisión en la Figura 2, donde se establecieron tres categorías en función de la oferta de alimento de preinicio y el consumo o no de alimento sólido antes de ser destetados (sin alimento, no comedores, comedores). Bruinix *et al*, (2002), demostraron que, los lechones a los que se les ofreció alimento y lo consumieron (comedores; línea gris), al ser destetados, la mitad de estos animales dejaron su condición de ayuno dentro de las primeras 4 horas posteriores al destete, y antes de 24 horas, todos los lechones ya habían consumido alimento. En cambio, los lechones que no tuvieron acceso al alimento sólido (Sin alimento; línea anaranjada) cerca de un 10% no dejaron su

condición de ayuno hasta casi las 50 horas, y los lechones que no consumieron alimento pero que si se les ofreció (no comedores; línea azul) les llevó hasta 80 horas posteriores al destete para que todos los animales dejaran su condición de ayuno. Lo que es crítico para los lechones, al ser la energía proveniente del alimento, la que da sustento al crecimiento (van Milgen *et al*, 2001)



Lechones destetados a 28 días de edad.

Figura 2. Porcentaje de lechones que no consumieron alimento después del destete. Las categorías se establecieron en función de la oferta de alimento de preinicio y el consumo o no, de alimento sólido antes de ser destetados; Sin alimento = lechones a los que no se les ofreció alimento sólido. No comedores = lechones con acceso al alimento sólido, pero no consumieron. Comedores = Lechones con acceso y consumo de alimento sólido. Modificada de Bruinix *et al* (2002).

1.3 Desarrollo de la actividad enzimática endógena del lechón

El cambio de alimento al momento del destete provoca que la fisiología digestiva del lechón se vea comprometida transitoriamente (Lindemann *et al*, 1986; Cranwell, 1995). El sistema enzimático de los cerdos recién nacidos está adaptado a su único alimento; la leche; la Figura 3, representa el cambio en el peso promedio del azúcar hidrolizado por kilogramo de peso de los lechones, se muestra la actividad de lactasa, maltasa y sacarasa, en lechones lactantes, y observamos un incremento en la actividad de lactasa (enzima responsable de la hidrólisis del principal azúcar de la leche; lactosa), conforme aumenta la edad de los lechones, hasta alcanzar un pico máximo a los 21 días, para comenzar a descender de la misma manera que la curva de producción de leche de la madre (Bailey *et al*, 1956; Kelly *et al*, 1991). Mientras que la actividad de maltasa y sacarasa aumentan paulatinamente.

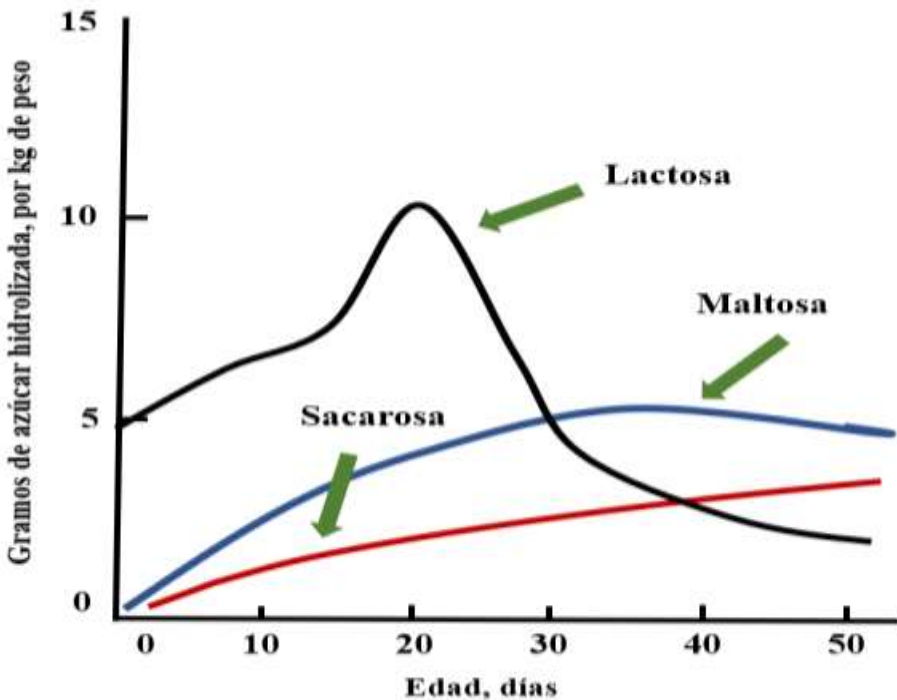


Figura 3. Cambios en la hidrólisis de azúcares por kilogramo de peso corporal, en función de la edad. Modificada de Bailey *et al* (1956).

La actividad de Amilasa y Lipasa es baja al momento del nacimiento, la Figura 4, muestra un aumento gradual de ambas actividades enzimáticas en función del consumo de alimento y la edad en semanas de lechones destetados a las 8 semanas de vida, y observamos como la pendiente de la actividad de amilasa va aumentando ligeramente a partir de la primera semana de vida, y no es hasta que el consumo de alimento es notorio que la pendiente llega a ser más marcada, alcanzando un pico máximo la quinta semana de vida para permanecer constante, en cambio, la actividad de lipasa se nota a partir de la tercera semana de vida, y aumenta de manera gradual hasta la última semana (semana 8) del periodo experimental (Corring *et al*, 1978). La proteína de la leche, es hidrolizada por la renina que coagula a la caseína (proteína mayoritaria de la leche), su descenso es entre el día 5 y 10 de vida (Foltmann *et al*, 1981), para ser compensada por la pepsina; secretada por el páncreas en forma de zimógeno o proenzima (pepsinógeno). La secreción de pepsinógeno es baja la primera semana de vida y aumenta de manera paulatina a partir de la segunda semana; su activación depende del ácido gástrico (Rodwell *et al*, 2015), que se ve limitada por la baja capacidad de producción que tienen los lechones (Cranwell, 1985). Finalmente, el desarrollo de enzimas digestivas y la producción de secreciones que contribuyen en los procesos digestivos se da en función de la ingesta de alimento (Hartman *et al*, 1961; Cranwell y Hansky, 1980).

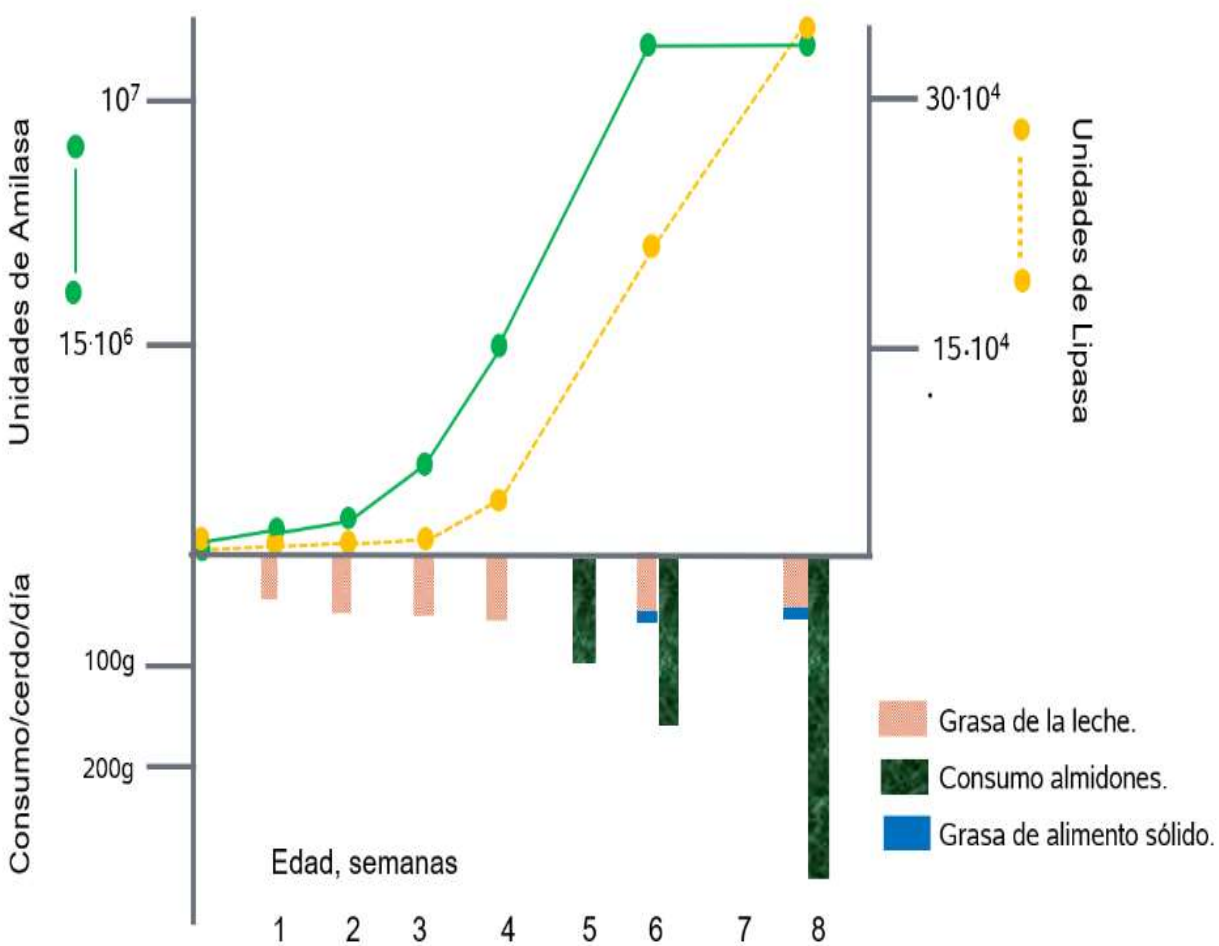


Figura 4. Actividad enzimática de lipasa y amilasa en lechones a partir del destete, hasta la octava semana de vida. Modificada de Corring *et al* (1978).

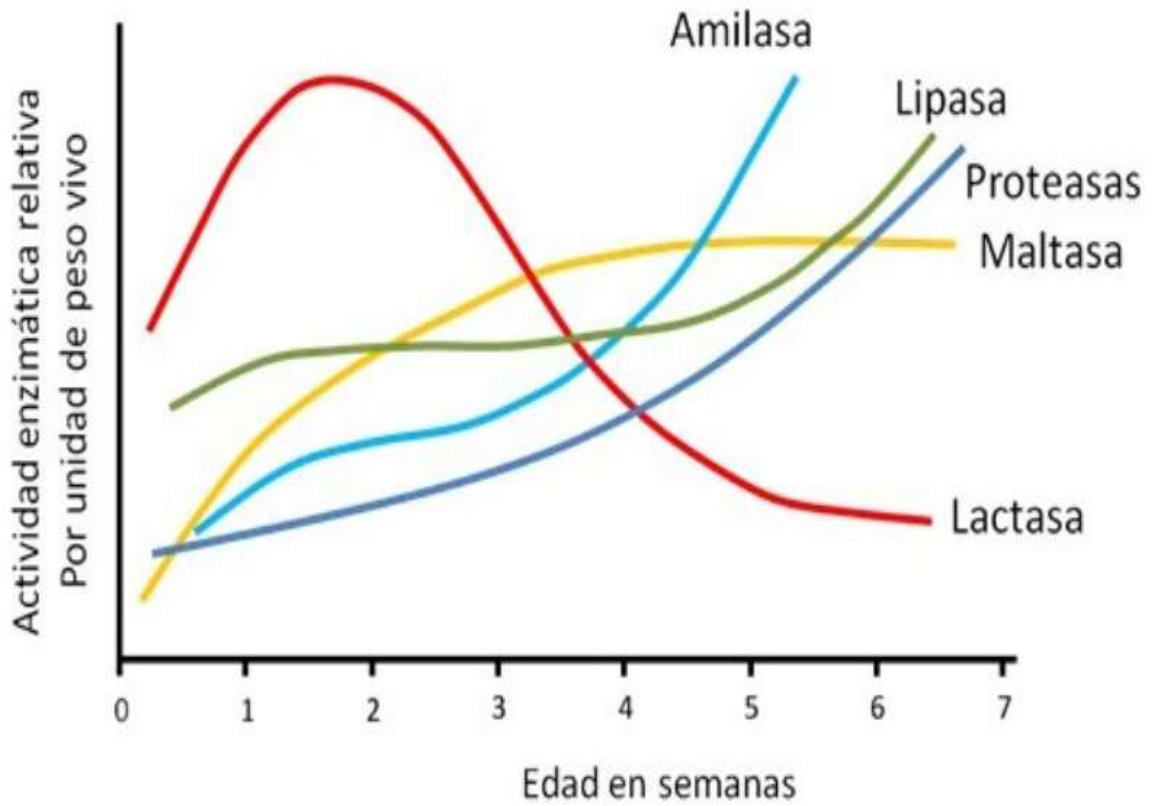


Figura 5. Cambios de la secreción enzimática en las primeras semanas de vida del cerdo. Modificada de Kidder y Manners (1978).

1.4 Enzimas

Una enzima es un catalizador específico, que en un sistema biológico incrementa la velocidad de una reacción química (Fersht, 1985). Las moléculas sobre las cuáles actúan las enzimas se denominan sustratos y las moléculas resultantes; productos (Roskoski, 2001). Son producidas mayoritariamente, por microorganismos; hongos, bacterias y levaduras (Lichtenberg *et al*, 2017).

1.5 Clasificación de las Enzimas endógenas.

Las enzimas endógenas se clasifican en: Endopeptidasas y Exopeptidasas (Rodwell *et al*, 2015), las endopeptidasas (Tripsina, Quimotripsina A, B, C y Elastasa), hidrolizan enlaces peptídicos internos entre aminoácidos específicos; son las primeras enzimas en actuar (Charles *et al*, 1963). Las Exopeptidasas, catalizan la hidrólisis de enlaces peptídicos, a partir de los extremos y se clasifican en Carboxipeptidasas; las que hidrolizan aminoácidos donde se encuentra el grupo carboxilo, y Aminopeptidasas, que liberan aminoácidos por el grupo amino terminal (Folk y Schirmer, 1963).

Las Endopeptidasas y Carboxipeptidasas se secretan en páncreas como precursores inactivos “Zimógenos” mientras que las Aminopeptidasas están asociadas a la mucosa intestinal (Josefsson y Lindberg, 1965).

1.6 Nomenclatura

Las enzimas se denominan al añadir el sufijo *-asa* al nombre de su sustrato, o a un descriptor para el tipo de reacción catalizada, por ejemplo, las enzimas que hidrolizan proteína, proteasas (Rodwell *et al.*, 2015). Otras como la pepsina y la tripsina no se refieren a su sustrato (Lehninger *et al*, 1995).

Con el paso del tiempo, se dio lugar a la duplicación de nombres a enzimas que mostraban capacidades catalíticas similares. Por lo que se adoptó un sistema de clasificación denominado “Número de Comisión Enzimática” (EC, por sus siglas en inglés) basado en el tipo de reacción química que cataliza cada enzima. Cada código consiste en las dos letras EC seguidas por 4 números separados por puntos (International Union of Biochemistry and Molecular Biology, 2006). Por ejemplo, la enzima Muramidasa tiene el código EC 3.2.1.17, construido así:

- 3 por hidrolasa (enzima que usa el agua para catalizar algunas reacciones).
- 3.2 por hidrolasa, que actúa sobre el enlace glucosídico.
- 3.2.1 por enzima catalizadoras de la hidrólisis de O- o S-glucósidos.
- 3.2.1.17 Lisozima.

1.7 Enzimas exógenas.

La adición de actividades enzimáticas en los alimentos para cerdos que complementen las actividades propias del animal es lo que conocemos como enzimas exógenas (Bedford y Schulze, 1998), y se usan en primera instancia para mejorar la digestibilidad de los nutrientes, al tiempo de disminuir los efectos de factores antinutricionales (de Lange *et al*, 2000). Con las actividades enzimáticas apropiadas se logra mejorar la respuesta en las variables productivas (Li *et al*, 1996; Bedford, 2000), además de tener un impacto positivo en la salud intestinal de los lechones, reduciendo productos de hidrólisis que contribuyen con el desarrollo de microorganismos que llegan a ser patógenos para el animal (Vahjen *et al*, 1998; Pluske *et al*, 2002).

Las enzimas exógenas se popularizaron desde los años 80, principalmente para digerir fitatos (Jongbloed *et al*, 1992). Durante los 90 se hicieron más disponibles enzimas para polisacáridos no amiláceos (Bedford y Schulze, 1998) y en este siglo surgieron enzimas complementarias como la Serina Proteasa y la Amilasa (Adeola y Cowieson, 2011). En la última década aparecieron en el mercado otras enzimas como Muramidasa (Si Lhyam *et al*, 2012), desarrolladas para atacar restos de pared celular bacteriana (Lichtenberg *et al*, 2017).

1.8 Otras enzimas

1.8.1 Muramidasa

La lisozima es una enzima que se encuentra de forma natural en diversos fluidos fisiológicos como: lágrimas, secreción mucosa, saliva y leche, es probablemente el agente antimicrobiano natural más antiguo (Fleming, 1922). La Muramidasa utilizada en este trabajo, fue seleccionada de entre más de 50 Muramidases diferentes, aislada del hongo *Acremonium alcalophilum* (Cepa 114.92), su selección fue basada en soportar las condiciones del pH en el estómago, estabilidad con pepsina y tener resistencia a altas temperaturas (Lichtenberg *et al*, 2017). Muramidasa, EC 3.2.1.17, es una enzima glucósido hidrolasa capaz de provocar la hidrólisis de los enlaces que conforman el peptidoglucano (Figura 6) principalmente de bacterias muertas (Lichtenberg *et al*, 2017). En la Figura 7, se muestra la representación esquemática de la pared celular bacteriana, donde observamos en color morado el peptidoglucano y nos damos cuenta de que lo podemos encontrar en diferentes proporciones y ubicación, tanto en bacterias gram positivas como en gram negativas.

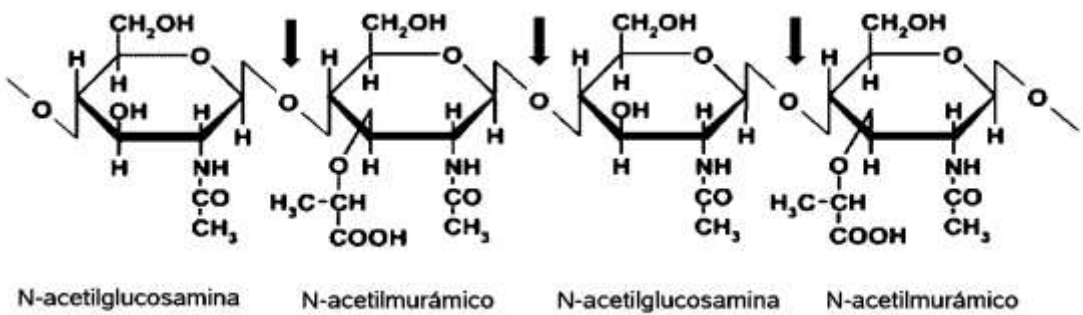


Figura 6. Cadenas alternantes de N-acetilmurámico y N-acetilglucosamina. Recuperado de depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/4ParedPeriplasma_26631.pdf.

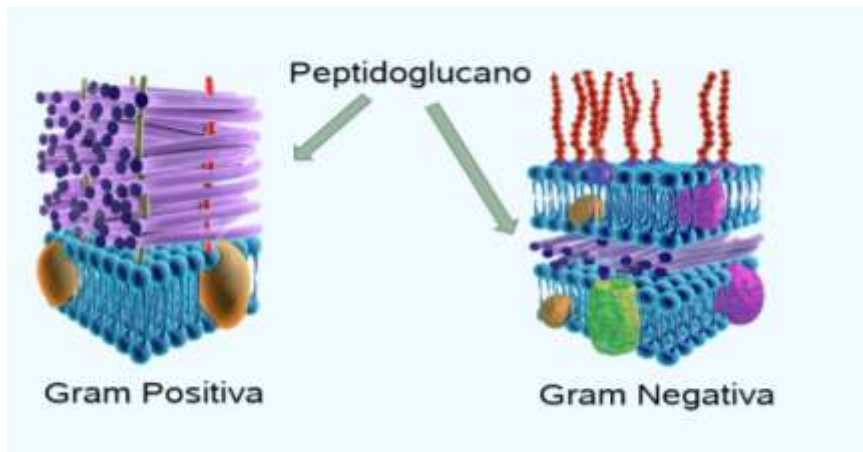


Figura 7. Representación esquemática de la pared celular bacteriana. Peptidoglucanos. Kateryna, Kon. Recuperado de <https://es.dreamstime.com/estructura-de-la-pared-celular-grampositiva-de-las-bacterias-image84181826>.

1.9 Capacidad de irritación de los alimentos

El exponer a los lechones a nuevos sustratos causa que el sistema inmune gastrointestinal se enfrente a nuevos antígenos dietarios (Pluske *et al*, 1997). Las células epiteliales, componente principal del sistema inmune gastrointestinal son capaces de diferenciar los antígenos dañinos de los inocuos a través de sistemas de reconocimiento (Cario y Pudolske, 2000), que en el caso de los lechones recién destetados tiene que ser desarrollado al tener un sistema inmune intestinal inmaduro. Se ha observado que conforme aumenta la edad del cerdo, la producción de anticuerpos en respuesta a los antígenos dietarios disminuye (Duchmann *et al*, 1995), y los epitelios se estratifican y maduran en respuesta a el alimento (Heo *et al*, 2012) todo esto indica que los lechones recién destetados son más propensos a fallos en el sistema de diferenciación de antígenos y es más común que se induzcan reacciones alérgicas a los componentes de la dieta o una inflamación patológica en el

intestino, que eventualmente genere tolerancia inmunológica o la manifestación de la inmunidad activa (Duchmann *et al*, 1995).

1.10 Costo de la inflamación y la activación del sistema inmune

La activación de la respuesta inmune innata, como primera línea de defensa, desencadena la producción de citocinas proinflamatorias (Interleucina- 1; IL-1, Interleucina-6; IL-6, y Factor de necrosis tumoral alfa; FNT- α) que actúan como mediadores primarios del metabolismo intermediario de carbohidratos, grasas y proteínas (Johnson, 1997; Webel *et al*, 1997). Las citocinas proinflamatorias incrementan la degradación de proteína muscular y estimulan la fase aguda de síntesis proteica hepática (Haptoglobina y proteína C-reactiva). Además, IL-1 e IL-6 son capaces de inducir una respuesta febril como un mecanismo de defensa. En humanos, se ha reportado que el aumento de 1°C en la temperatura corporal significa el incremento de un 13% del trabajo del metabolismo basal (Dantzer, 2004), las células demandan un aumento del consumo de oxígeno y glucosa hasta el doble de lo que normalmente necesitan (Colditz, 2002) y los requerimientos de algunos aminoácidos como glutamina se incrementan de 2 a 3 veces durante la proliferación celular inducida por antígenos (Wilmor y Shabert, 1998). En su conjunto la información anterior indica que la inflamación y la estimulación del sistema inmune induce a una regulación enzimática que deprime las actividades anabólicas en favor de las catabólicas para mantener el flujo de nutrientes en sustento de la respuesta inmune (Spurlock, 1997).

2. JUSTIFICACIÓN

Al destete, el uso de ingredientes se ve restringido por factores antinutricionales, y la adición de actividades enzimáticas exógenas, las que hidrolizan sustratos dietarios para complementar la incapacidad endógena y favorecen la posibilidad de usar ingredientes altamente digestibles que terminan encareciendo la dieta, no necesariamente reducen las agresiones al intestino. La aplicación actual de las fitasas, enzimas contra PNA, Amilasa y Proteasas es el resultado de la conveniencia de su uso y se ha generado mucha información que soporta las prácticas actuales, pero en el caso de Muramidasa con diferente modo de acción sus beneficios no se explicarían por la simple liberación de nutrientes. Por lo que se abre la posibilidad de cosechar los beneficios de la adición de enzimas más allá de la digestibilidad.

3. HIPÓTESIS

La adición de actividades enzimáticas exógenas: β -Glucanasa, Pectinasa, Hemicelulasa, α -Amilasa, Proteasa y Muramidasa podrá mejorar el comportamiento productivo de los lechones al destete y la eficiencia de utilización de la energía.

4. OBJETIVOS

- Asociar los efectos de actividades enzimáticas exógenas como: una β -Glucanasa, Pectinasa, Hemicelulasa, α -Amilasa, y Proteasa (EEX), en su relación con una Muramidasa (MUR) para mejorar variables productivas como CDA, GDP y GxC de los lechones al destete.
- Evaluación del estado sanitario de los animales con la medición de la expresión de citocinas proinflamatorias como: TNF- α , IL-6, INF γ e IL-10 y la prevalencia de diarreas.
- Determinación de la eficiencia de utilización de la energía en cerdos alimentados con la adición o no de MUR a través de los sistemas de medición de Energía Digestible, Metabolizable y Neta.

5. MATERIAL Y MÉTODOS

El manejo de los animales y los procedimientos experimentales, se realizaron observando los lineamientos de la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999, Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio (DOF, 2001), y el Manual de Buenas Prácticas de Producción en Granjas Porcícolas.

5.1 Sitio experimental

El trabajo se condujo en las instalaciones del Centro Nacional de Investigación Disciplinaria de Fisiología y Mejoramiento Animal, INIFAP, ubicado en el Municipio de Colón, Estado de Querétaro, México (20°41'42" N y 100°00'54" O; 20°69'28" N y 100°01'40" O a 1969 msnm). La temperatura promedio durante el experimento fue de 19.25°C con una mínima y máxima registradas de 4.5 y 31°C y 22.8% de humedad relativa promedio.

El trabajo constó de 3 experimentos. Experimento 1 (Exp 1), con una duración de 42 días. Se usaron un total de 552 lechones provenientes de cuatro bloques (grupos consecutivos de producción) divididos en 92 Unidades experimentales (UE, la unidad experimental fue un corral, conformado con 6 lechones); se tuvieron 20 UE para el primer bloque y 24 UE para los 3 bloques posteriores (con una mezcla equilibrada entre hembras y machos por Tratamiento; 3 machos y 3 hembras por UE). La edad y peso promedio de los cerdos al inicio del experimento (al destete) fue de 6.1 ± 1.36 kg de peso y 20 ± 0.83 días de edad.

El Experimento 2 (Exp 2), también con una duración de 42 días. Incluyó un total de 588 lechones divididos en 100 UE, resultando en un total de 25 repeticiones por Tratamiento (provenientes de 5 grupos consecutivos de partos). Cada UE consistió en un corral con 5 a 7

lechones (sexo equilibrado entre Tratamientos. La edad y el peso de los lechones al inicio del experimento fue de 24 ± 1.5 días y 6.6 ± 1.26 kg.

Para el Experimento 3 (Exp 3), al finalizar la sexta semana del Exp 2, aproximadamente a los 63 días de edad, se seleccionaron un total de 32 machos castrados, que se dividieron en 8 bloques (4 cerdos por bloque), resultando en un total de 16 repeticiones por Tratamiento. Su selección fue con base al peso final del Exp 2, y Tratamiento asignado, para formar bloques con un peso y variación similar. La edad y peso promedio de los cerdos al inicio del Exp 2 fue de 82 ± 9.8 días y 31.9 ± 3.68 kg. Los cerdos se trasladaron de la granja a la unidad metabólica 8 días previos al inicio del Experimento, para la adaptación al manejo ambiental, instalaciones y alimento. El período experimental tuvo una duración de 6 días por bloque.

5.2 Variables productivas

Para el Exp 1 y 2, diariamente se registró el alimento ofrecido y al finalizar la semana se pesaron los remanentes del comedero para estimar por diferencia el consumo diario de alimento (CDA); al inicio del periodo experimental y al finalizar cada semana se pesaron los lechones individualmente para estimar la ganancia diaria de peso (GDP) y la eficiencia alimenticia se calculó como la ganancia en función del consumo ($G \times C$). Se llevó una bitácora en donde diariamente se anotó la consistencia de las heces por corral, usando una escala subjetiva del 1 al 5 (Pérez *et al*, 2012) para el experimento uno y del 0 al 3 para el experimento dos (Comunicación personal de Pérez, 2018) en donde: 0 = firmes, 1 = blandas, 2 = diarrea leve, y 3 = diarrea severa (Figura 8).

CONSISTENCIA DE LAS HECES



Figura 8. Escala subjetiva para la calificación de la consistencia de heces (Exp 2) del 0 al 3, en donde: 0 = firmes, 1 = blandas, 2 = diarrea leve, y 3 = diarrea severa. Pérez, C.E, 2018. DSM Nutritional products France, comunicación personal. Village Neuf, France.

5.3 Manejo

Todos los lechones se identificaron al nacimiento mediante muescas en las orejas y no tuvieron acceso a alimento predestete. El pesaje de los lechones se realizó un día antes del destete como procedimiento de aleatorización a los Tratamientos en función de camada de origen, sexo y peso corporal, conforme a un Diseño de Bloques Completos al Azar.

Ambos experimentos (1 y 2), se dividieron en dos etapas de 21 días cada una, con la finalidad de crear dos situaciones de estrés, una al momento del destete y la otra por el cambio de alojamiento, manejo ambiental y alimentación. Durante los primeros 21 días, los lechones se alojaron en la sala de destete, un edificio cerrado con ambiente controlado mediante un calentador de gas y ventilación natural. El edificio cuenta con 24 jaulas elevadas de piso de

rejilla de plástico con una superficie efectiva de 1.36 m². Cada jaula está provista de un bebedero de pivote y un comedero con 7 bocas de alimentación. Al destete, los lechones se recibieron con el termostato fijo a un mínimo de 30° C y se redujo gradualmente en 4°C por semana. De la cuarta hasta la sexta semana los lechones se alojaron en un edificio tipo frente abierto, sin más control ambiental que el uso de cortinas. El edificio cuenta con 24 corrales con piso sólido de concreto, con una superficie efectiva de 5.40 m². Cada corral tiene un comedero húmedo con tolva que incluye un bebedero de pivote en el plato de consumo y un bebedero de pivote adicional en la parte opuesta del comedero. La identidad de las UE se mantuvo durante toda la evaluación.

En el Exp 2, al destete (día 0), a los 5, 6, 8, 9, 22 y 23 días después del destete se tomaron muestras de sangre de 3 cerdos al azar por UE (60 cerdos por Tratamiento), para la determinación de las citocinas (IL-6, IL-10, IFN γ y TNF α) y detectar la respuesta de inmunomodulación a los retos impuestos por el destete (día 0), por la ingesta significativa de alimento (días 5 y 6), 24 horas después del cambio de Fase 1 a la Fase 2 (día 8 y 9) y de la Fase 2 a la Fase 3 del alimento (día 22 y 23). Las muestras fueron colectadas de la vena cava en tubos Vacutainer BD de 6mL (tapón rojo sin coagulante) e inmediatamente se colocaron en una hielera. Para la obtención del suero, la sangre fue centrifugada a 3,500 rpm durante 5 min a 4°C, todas las muestras fueron almacenadas a -20°C para su posterior análisis.

En el Exp 3, los animales se trasladaron de la granja a la unidad metabólica (dentro del mismo Instituto) se recibieron 8 días antes del inicio del experimento, y la evaluación tuvo una duración de seis días. Los cerdos fueron alojados en jaulas individuales, con piso de rejilla de plástico y una superficie efectiva de 0.80 m². Cada jaula esta provista de un comedero y

un bebedero de pivote. En la parte inferior, cuenta con una malla que retiene las heces y debajo una charola de aluminio con embudo que permite la colecta de orina. Los cerdos se pesaron al inicio y al finalizar el periodo experimental. Se alimentaron una vez al día (0800h); de acuerdo con su peso metabólico ($550 \text{ kcal EM/kg}^{0.60}$). Cada día se registró el alimento ofrecido, y se retiraron los sobrantes del día anterior, los cuales se secaron en una estufa de aire forzado para finalmente estimar el consumo de materia seca.

Al inicio y al finalizar el periodo experimental, se añadió óxido férrico (3g/kg) al alimento para determinar la colecta de heces, que se realizaba una vez al día (por la mañana). Cada día, las heces colectadas se almacenaban a -20°C , y al terminar el período experimental, se descongelaron y homogenizaron para secarlas parcialmente en una estufa de aire forzado a 55°C , una vez secas, se molieron en un equipo Thomas Wiley hasta pasar por una criba de 1 mm, para obtener el 10% del peso total como muestra final. La orina se colectó una vez al día, en cubetas de plástico situadas por debajo de la jaula, que contenían 40 mL de una solución 6N de HCl, para evitar la pérdida de amoníaco por volatilización. Este sistema de recolección incluía un colador sobre la cubeta con fibra de vidrio y manta de cielo, para prevenir la contaminación con alimento y heces. Todos los días, en una bitácora se anotó la cantidad de orina colectada, y se tomó una alícuota del 5% que se mantuvo a -20°C hasta el análisis.

Durante el periodo experimental y por cuestiones de metodología (mínimo 60 kg por Cámara respiratoria; CR), para detectar el consumo de O_2 y la excreción de CO_2 , se alojaron dos cerdos por cámara respiratoria (CR), cada uno con comedero y bebedero independiente. Las CR permanecieron a una temperatura promedio de $25.1 \pm 1.53^{\circ}\text{C}$, con iluminación las 24

horas. La producción de calor se midió de manera continua durante 120 horas, más 12 horas para calcular la producción de calor en ayunas (PCA). Las mediciones se basaron en el consumo de O₂ (Sensor List 9985 33C.csv), y la producción de CO₂. Las muestras de orina para determinar PCA se colectaron y analizaron por separado.

5.4 Alimento

Para los 3 experimentos, las dietas fueron formuladas a partir del análisis de la materia prima, mediante programación lineal a costo mínimo (Nutrion[®]), todo el alimento se elaboró en forma de harina. Los principales ingredientes fueron granos de cereales (maíz y sorgo), pastas de oleaginosas (soya y canola), suero de leche y harina de pescado.

En todas las Fases de alimentación, por la adición de fitasa, la concentración de P digestible para la formulación se redujo en 0.1 unidades porcentuales y por el nivel de fósforo total resultante, las concentraciones de calcio se ajustaron para una relación Ca:P entre 1 y 1.15. El resto de los nutrientes cumplió con los requerimientos o recomendaciones del NRC 2012.

5.8 Análisis de muestras

El análisis de materia seca (MS) y proteína cruda (PC) para el alimento, heces y orina (Exp. 3), se determinó de acuerdo con los métodos 934.01 y 976.05 de la AOAC (2000). El calor de combustión se obtuvo por medio de una bomba calorimétrica adiabática (modelo 1281, Parr, Moline, IL). En la orina, se determinó el contenido de nitrógeno (método 976.05; AOAC, 2000) y para la determinación de energía la orina se liofilizó para someterla al estudio del calor de combustión con los procedimientos de (Le Bellego *et al*, 2018).

5.5 Experimento 1

El programa de alimentación consistió en tres Fases (Cuadro 1): Fase 1, con una duración de 7 días a partir del destete; Fase 2, durante 2 semanas y Fase 3 por los últimos 21 días de la evaluación. El experimento se condujo conforme a un Diseño de Bloques Completos al Azar, en el que los Tratamientos fueron un arreglo factorial (2×2), resultado de 2 estrategias de inclusión de pasta de soya en la dieta: Fase 1, 12 o 24%; Fase 2, 16 o 32%; y Fase 3, 20 o 32%. Los factores son la adición de pasta de soya a dos niveles (bajo y alto), y la inclusión de enzimas exógenas en la dieta a dos niveles (con y sin enzimas), para obtener un total de cuatro Tratamientos.

En el Cuadro 1, se detallan las dietas experimentales, algunos de sus nutrientes calculados se muestran en el Cuadro 2. Los niveles calculados de Energía Metabolizable (EM) fueron 3.45, 3.42 y 3.35 Mcal/kg de alimento para las Fases 1 a 3; los niveles de lisina digestible (digestibilidad ileal estandarizada) se establecieron en Fase1; 1.38 %; Fase2; 1.32 % y Fase3 en 1.28%.

Cuadro 1. Dietas experimentales. Exp. 1*

Ingredientes kg/t	Fase 1		Fase 2		Fase 3	
	12.00	24.00	16.00	31.70	20.00	32.00
Nivel de pasta de soya, %	12.00	24.00	16.00	31.70	20.00	32.00
Sorgo, grano (8.5%)	26.90	23.48	30.43	21.25	43.33	37.00
Maíz, amarillo (8%)	28.00	24.00	28.00	28.00	20.00	20.00
Soya, pasta (47%)	12.00	24.00	16.00	31.70	20.00	32.00
Leche, suero	16.20	16.20	8.00	8.00	---	---
Pescado, harina	7.00	---	7.00	---	7.00	---
Canola, pasta (36%)	3.00	3.00	4.00	4.00	5.00	5.00
Canola, aceite	3.50	5.10	3.50	3.50	---	---
Sebo	---	---	---	---	2.20	2.60
Fosfato, mono y dicálcico	0.55	1.24	0.57	1.23	0.24	0.91
L-Lisina·HCl	0.69	0.70	0.55	0.45	0.43	0.44
Calcio, carbonato	0.53	0.75	0.49	0.72	0.54	0.78
Sal	0.40	0.40	0.40	0.40	0.36	0.36
L-Treonina	0.24	0.23	0.18	0.11	0.14	0.13
DL-Metionina	0.20	0.23	0.12	0.10	0.08	0.10
Dartamox premix ^{®a}	0.10	0.10	0.10	0.10	---	---
Denagard CTC ^{®b}	---	---	---	---	0.20	0.20
L-Valina	0.10	---	0.10	---	---	---
Minerales traza, premezcla ^c	0.10	0.10	0.08	0.08	0.09	0.10
Vitaminas, premezcla ^d	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08
L-Isoleucina	0.08	0.08	0.08	---	---	---
Colina - HCl, 60%	0.07	0.07	0.07	0.07	0.10	0.10
L-Triptófano	0.06	0.04	0.05	0.01	0.01	---
Total	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00

* Todas las dietas incluyeron 0.20 kg/t de Ronozyme[®] Hiphos (GT). DSM Nutricional Products México. Las enzimas que se incluyeron para establecer los Tratamientos fueron: Ronozyme[®] VP, 0.30 kg/t; Ronozyme[®] ProAct, 0.20 kg/t y Ronozyme[®] HiStarch, 0.15 kg/t. DSM Nutricional Products México. Las enzimas para los Tratamientos se agregaron a expensas de sorgo.

^a Amoxicilina Trihidratada (200 ppm), Animal Care Products, S.A. de C.V.

^b Fumarato hidrogenado de tiamulina (100 ppm) y Clortetraciclina (300 ppm), Denagard CTC[®], Elanco Animal Health.

^c La premezcla de minerales aportó los siguientes elementos, en mg/kg de premezcla: Co (carbonato), 0.60; Cu (sulfato), 12; Fe (sulfato), 100; I (EDDI), 0.80; Mn (sulfato), 33; Se, 0.25 (Selenito de sodio); Zn, 120 (Sulfato).

^d La premezcla de vitaminas aportó las siguientes concentraciones por kg de premezcla: Vitamina A, 13,300 UI; Vitamina D³, 3,700 UI; Vitamina E, 160 mg; Vitamina K, 9.38 mg; Biotina, 0.67 mg; Cianocobalamina, 0.07 mg; Ácido fólico, 5.30 mg; Niacina, 66.70 mg; Ácido pantoténico, 46.70 mg; Piridoxina, 6.67 mg; Riboflavina 12.00 mg; Tiamina, 4.00 mg; Ácido ascórbico, 266.70 mg. DSM Nutricional Products México.

Cuadro 2. Análisis calculado de algunos nutrientes en las dietas basales experimentales, por Fase de alimentación.

Fase de alimentación	Fase 1		Fase 2		Fase 3	
	12.00	24.00	16.00	31.70	20.00	32.00
Nivel de pasta de soya, %	12.00	24.00	16.00	31.70	20.00	32.00
EM, Mcal/kg	3.43	3.48	3.42	3.42	3.35	3.35
EN, Mcal/kg	2.55	2.55	2.54	2.46	2.48	2.43
Proteína cruda, %	18.69	19.33	20.02	21.99	21.43	22.16
Lisina total, %	1.55	1.58	1.51	1.56	1.49	1.52
Lisina digestible, ^a %	1.38	1.38	1.32	1.32	1.28	1.28
Treonina digestible, ^a %	0.87	0.87	0.83	0.83	0.82	0.82
Calcio total, %	0.68	0.68	0.65	0.65	0.60	0.60
Fósforo total, %	0.61	0.61	0.60	0.60	0.53	0.53
Fósforo digestible, %	0.40	0.40	0.37	0.37	0.27	0.27

^a Digestibilidad ileal estandarizada.

Todos los Tratamientos incluyeron 200 g/Tm de una 6-fitasa (Ronozyme[®] HiPhos, DSM Nutritional products México) con una actividad de 10,000 unidades de fitasa (FYT) por gramo de producto, proveniente de *Citrobacter braakii* y expresada en *Aspergillus oryzae*.

Las enzimas que se usaron adicionalmente para conformar los Tratamientos fueron: 300 g/Tm de un complejo multienzimático (Ronozyme[®] VP, DSM Nutritional products México);

150 g/Tm de una α -Amilasa (Ronozyme[®] HiStarch, DSM Nutritional products México) y 200 g/Tm de una serina-Proteasa (Ronozyme[®] Proact, DSM Nutritional products México).

El complejo multienzimático Ronozyme[®] VP comprende las siguientes actividades por gramo de producto: β -Glucanasa; con actividad de 5,000 unidades, Pectinasa; con actividad de 50 unidades y una Hemicelulasa, todas provenientes de *Aspergillus aculeatus*.

Ronozyme[®] HiStarch aportó una actividad de 90 unidades por gramo, proveniente de *Bacillus licheniformis* y Ronozyme[®] Proact con una actividad de 70,000 unidades por gramo, producida de *Nocardopsis prasina* y expresada en *Bacillus licheniformis*.

Para controlar problemas infecciosos endémicos en el sitio experimental (*Haemophilus parasuis* y *Pasterella sp.*), se incluyó Amoxicilina trihidratada (200 ppm, Dartamox[®] premix, Animal Care Products) en la Fase de alimentación 1 y 2, así como Fumarato hidrogenado de tiamulina (100 ppm) más Clortetraciclina (300 ppm) en la tercera Fase (Denagard CTC[®], Elanco Animal Health).

Los datos se analizaron conforme a un Diseño de Bloques Completos al Azar (cada bloque fue un grupo consecutivo de producción mensual), en un arreglo factorial (2×2), distinguiendo los efectos mayores del nivel de inclusión de pasta de soya (SOY), de enzimas exógenas (EXX) y su posible interacción (SOY×EXX). Al finalizar la evaluación, para distinguir la respuesta del peso al destete a los Tratamientos, se clasificaron las UE en dos categorías (CAT): Ligeros, UE que pesaran 1 desviación estándar (S) por debajo de la media y Pesados, el resto de las UE. Se usaron las rutinas del paquete estadístico de SAS (v. 9.3). Con los procedimientos UNIVARIATE para estudiar la normalidad y homogeneidad de varianzas; GLM para el análisis de varianza; MIXED (Littell *et al*, 1998) para el estudio de las respuestas en tiempo y REG para someter el peso corporal a un análisis de regresión, en el que previamente con contrastes polinómicos ortogonales se distinguieron los efectos lineales, cuadráticos y cúbicos más interesantes, a fin de predecir el peso corporal en función de los días de edad por CAT.

Los resultados se presentan como las medias de mínimos cuadrados de la interacción SOY×EEX y de las categorías de peso de los lechones al destete.

La ecuación lineal del modelo estadístico utilizado fue el siguiente:

$$Y_{ijk} = \mu + A_i + B_j + (AB)_{ij} + E_{ijk}$$

Donde:

$$i = 1, 2, \dots, a$$

Y_{ijk} = Variable respuesta.

$$j = 1, 2, \dots, b$$

μ = Media general.

A_i = Efecto de la adición de pasta de soya al nivel i .

B_j = Efecto de la adición de enzimas exógenas al nivel j .

$(AB)_{ij}$ = Efecto de la interacción de la adición de pasta de soya y enzimas exógenas al nivel i, j .

E_{ijk} = Error aleatorio.

5.6 Experimento 2

El programa de alimentación consistió en tres Fases; Fase 1) Durante 7 días; Fase 2, por 14 días, y Fase 3, los últimos 21 días del experimento. Los Tratamientos fueron: 1) dieta basal sin antibióticos (CN); 2) CN+0.440 kg / t de Muramidasa (M35) con el fin de obtener la adición de 35×10^3 LSU (F) / kg; 3) CN+0.620 kg / t de Muramidasa (M50) para obtener la adición de 50×10^3 LSU (F) / kg; 4) CN + antibióticos (CP). Para enfrentar problemas endémicos de la granja, como Enfermedad de Glasser (*Haemophilus parasuis*) y problemas infecciosos espontáneos (por ejemplo, *Pasteurella* y *E. coli*) se adicionaron 200 ppm de amoxicilina (Dartamox[®] premix, Animal Care Products) durante la Fases 1 y 2, en la Fase 3, 100 ppm de tiamulina + 300 ppm de Clorotetraciclina (Denagard CTC[®], Elanco Animal Health, México).

En el Cuadro 3, se detallan las dietas experimentales y en el Cuadro 4, algunos de sus nutrientes analizados. Los niveles calculados de energía metabolizable (EM) fueron 3.40, 3.40 y 3.37 Mcal/kg de alimento para las Fases 1 a 3; los niveles de lisina digestible (digestibilidad ileal estandarizada) se establecieron en Fase 1; 1.50 %; Fase 2; 1.40 % y Fase 3 en 1.30%.

Cuadro 3. Dietas basales experimentales. Exp 2 y 3 ^{a, b}.

Ingredientes, kg / t	Fase 1	Fase 2	Fase 3	Fase 4
	0-7d posdestete	8-21d posdestete	22-42d posdestete	Exp. 3.
Maíz amarillo, grano	261.50	277.50	257.50	200.00
Sorgo, grano ^{a, b}	229.50	269.40	338.30	465.30
Suero de leche	200.00	100.00	---	---
Soya, pasta	150.00	200.00	257.00	193.00
Pescado, Harina	70.00	60.00	30.00	---
Canola, pasta	30.00	40.00	60.00	90.00
Aceite vegetal	30.00	28.00	31.00	23.00
L-lisina · HCl	7.70	6.05	4.93	4.37
Sal yodada	4.00	4.00	4.00	3.60
Fosfato mono y dicálcico	3.60	4.80	5.90	7.20
L-treonina	3.33	2.45	2.00	1.28
DL-metionina	2.40	1.00	0.93	0.91
L-Valina	1.60	0.40	--	--
Colina - HCl, 60%	1.50	1.50	1.10	1.10
Minerales traza, premezcla ^c	1.10	1.10	0.90	0.80
Carbonato de calcio	1.00	2.10	5.10	8.34
Vitaminas, premezcla ^d	0.85	0.85	0.70	0.50
L-triptófano	0,72	0.35	0.14	0.10
L-isoleucina	0.70	--	--	--
Ronozyme VP [®]	0.30	0.30	0.30	0.30
Ronozyme HiPhos GT [®]	0.20	0.20	0.20	0.20
Total	1,000.00	1,000.00	1,000.00	1,000.00

^aAntibióticos, 200 ppm de amoxicilina (Dartamox premix[®], Animal Care Products) en Fase 1 y 2; 100 ppm de tiamulina y 300 ppm de clortetraciclina (Denagartd CTC[®], Elanco Animal Health), en Fase 3. La premezcla se añadió a expensas del grano de sorgo.

^bMuramidasa se añadió a 0.440 kg / t ($\approx 35 \times 10^3$ LSU F / kg de alimento) o 0.620 kg / Tm ($\approx 50 \times 10^3$ LSU F / kg) a expensas de grano de sorgo.

^cLa premezcla de minerales aportó los siguientes elementos, en mg/kg de premezcla: Co (carbonato), 0.60; Cu (sulfato), 12; Fe (sulfato), 100; I (EDDI), 0.80; Mn (sulfato), 33; Se, 0.25 (Selenito de sodio); Zn, 120 (Sulfato).

^dLa premezcla de vitaminas aportó las siguientes concentraciones por kg de premezcla: Vitamina A, 13,300 UI; Vitamina D3, 3,700 UI; Vitamina E, 160 mg; Vitamina K, 9.38 mg; Biotina, 0.67 mg; Cianocobalamina, 0.07 mg; Ácido fólico, 5.30 mg; Niacina, 66.70 mg; Ácido pantoténico, 46.70 mg; Piridoxina, 6.67 mg; Riboflavina 12.00 mg; Tiamina, 4.00 mg; Ácido ascórbico, 266.70 mg. DSM Nutricional Products México.

Cuadro 4. Análisis calculado de algunos nutrientes en las dietas basales experimentales, por Fase de alimentación.

Nutrientes	Fase 1	Fase 2	Fase 3	Fase 4
	0-7d posdestete	8-21d posdestete	22-42d posdestete	Exp. 3.
Energía metabolizable, Mcal/kg	3.40	3.40	3.37	3.32
Proteína cruda ^a , %	20.00	20.83	21.44	18.26
Lisina Digestible ^b , %	1.50	1.40	1.30	1.05
Calcio, %	0.71	0.69	0.62	0.57
fósforo total, %	0.61	0.60	0.54	0.50
fósforo digestible, %	0.39	0.35	0.27	0.23

^a Con fines de constatación, todos los alimentos se analizaron por Fase de alimentación. Los resultados fueron los siguientes en %: Fase 1, 19.19 ± 0.632 ; Fase 2, 19.86 ± 1.102 ; Fase 3, 20.56 ± 0.849 ; Fase 4, 17.48 ± 0.130 .

^b Digestibilidad ileal estandarizada.

Los datos se analizaron conforme a un Diseño de Bloques Completos al Azar, los bloques (5) fueron grupos consecutivos de producción, los datos se analizaron con los siguientes procedimientos del paquete estadístico SAS (v. 9.3); UNIVARIATE para estudiar la normalidad y homogeneidad de varianzas; GLM para los análisis de varianza y MIXED (Littell *et al*, 1998) para el estudio de las respuestas en tiempo. Se usaron tres comparaciones planeadas de grado de libertad único, para analizar los tres contrastes posibles 1); CN vs. CP 2); CP vs. M35 + M50 y 3); CN vs. M35 + M50. Los resultados se presentan como las medias de los mínimos cuadrados de cada de las variables analizadas.

La ecuación lineal del modelo estadístico utilizado fue el siguiente:

$$Y_{ij} = \mu + A_i + B_j + E_{ijk}$$

Donde:

$$i = 1, 2, 3, 4, \dots, a$$

Y_{ij} = Variable respuesta.

$$j = 1, 2, 3, 4, 5, \dots, b$$

μ = Media general.

A_i = Efecto asociado al Tratamiento i.

B_j = Efecto del bloque j.

E_{ij} = Error aleatorio.

5.7 Experimento tres

El programa de alimentación fue consecutivo al experimento dos (Cuadro 3) consistió en una Fase (Fase 4) a lo largo del experimento. Los Tratamientos fueron dos; 1) Control Negativo (CN), dieta basal sin antibióticos; 2) CN+0.62 kg / t de Muramidasa (M50) para obtener la adición de 50×10^3 LSU (F) / kg. La composición calculada de algunos de los nutrientes de las dietas se detalla en el Cuadro 4. el nivel calculado de energía metabolizable (EM) fueron 3.32 Mcal / kg, en el caso de lisina digestible (digestibilidad ileal estandarizada), el nivel calculado fue 1.05%; el resto de los nutrientes cumplió con los requerimientos o recomendaciones del NRC, 2012. Las ecuaciones para determinar Energía Digestible (ED), Energía Metabolizable (EM), Energía Neta (EN) en kcal/ kg de materia seca consumida y para el cálculo de la producción de calor (PC) a partir del intercambio gaseoso se muestran a continuación:

ED = Energía Bruta del alimento – Energía excretada en heces (de Lange y Birkett, 2005).

EM = Energía Digestible – Energía excretada en orina (Noblet *et al*, 1985).

EN = Energía Metabolizable – Producción de calor (Noblet *et al*, 1994).

PC = $16.175 \text{ O}_2 \text{ (L)} + 5.021 \text{ CO}_2 \text{ (L)} - 0.958 \text{ PC (g)}$ (Gerrits *et al*, 2015).

Los datos se analizaron conforme a un Diseño de Bloques Completos al Azar, en el experimento se tuvieron un total de 32 cerdos correspondientes a 8 bloques por Tratamiento, cada bloque fue un par de individuo por Tratamiento por la oportunidad de ocupación de las cámaras respiratorias, con los procedimientos del paquete estadístico de SAS (v. 9.3);

UNIVARIATE, para analizar la normalidad de la muestra y homogeneidad de varianza;

MEANS, para el estudio de la estadística descriptiva y GLM, para análisis de varianza,

La ecuación lineal del modelo estadístico utilizado fue el siguiente:

$$Y_{ij} = \mu + A_i + B_j + E_{ijk}$$

Donde:

$$i = 1, 2, \dots, a$$

Y_{ij} = Variable respuesta.

$$j = 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, \dots, b$$

μ = Media general.

A_i = Efecto asociado al Tratamiento i.

B_j = Efecto del bloque j.

E_{ij} = Error aleatorio.

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1 Experimento 1

En el Cuadro 5, se presenta el comportamiento productivo acumulado de los lechones durante los 42 días de la evaluación. En la respuesta de los lechones a los 7 días posdestete, el CDA fue similar ($P>0.66$) para los animales que consumieron el nivel alto o bajo de SOY y la adición o no de EEX, no se encontró interacción SOY×EEX ($P>1.00$) pero, los animales que consumieron la dieta con EEX ganaron más peso ($P<0.02$; 30 vs. 10 g/d; EEM, 0.007) lo que resultó que los cerdos que recibieron EEX tuvieran una mejor eficiencia alimenticia ($P<0.07$; EEM, 0.074; 0.25 vs. 0.11 kg). Sin embargo, los efectos asociados a EEX fueron transitorios al ser observados solo durante la primera semana posdestete, cuando el CDA fue bajo ($0.11 \text{ kg} \pm 0.019 \text{ kg}$). Un pobre consumo de alimento dentro de las primeras 24 a 48 horas posdestete provoca la degeneración de la mucosa intestinal (enterocitos), lo que induce la disminución de las enzimas digestivas del borde de cepillo y la actividad de las enzimas pancreáticas (Hampson y Langford, 1986), así la presencia de las enzimas exógenas pudo haber actuado para complementar la incapacidad digestiva del lechón, lo que explicaría las mejoras en GDP y G×C al mismo consumo.

Las respuestas acumuladas de las variables productivas a los 21 y 42 días posdestete fueron similares independientemente del nivel de EEX o SOY ($P>0.91$), razón por la que no se presentan los resultados a 21 días, tampoco se encontró interacción SOY×EEX ($P>0.94$). Esto sugiere una rápida adaptación a la pasta de soya sin el efecto de las enzimas (Friesen *et al*, 1993; Smith y Dilger 2018). La consistencia de las heces durante la primera semana posdestete fue mejor para los lechones que no consumieron EEX ($P<0.04$; Sin, 2.85 vs. Con,

2.99; EEM, 0.108) sin importar el nivel de SOY ($P>0.83$), este parámetro nos permitió calificar subjetivamente procesos digestivos provocados por el sobrepaso de nutrientes que podrían ser aprovechados por la fermentación bacteriana en el colon, dando origen a un aumento en la presión osmótica y secreción (Holland, 1990; Schreurs *et al*, 2011), sin embargo, al ser una calificación subjetiva por UE, ambos resultados indican que las heces tuvieron una consistencia entre normal y pastosa (2.92 ± 0.518) y de ninguna manera se sugiere la presencia de diarreas, que se calificarían como heces semilíquidas o líquidas (calificación 4-5). A partir del d-8 posdestete y hasta el día 14, se notó un aumento en la presencia de heces líquidas en todas las UE, y la desaparición de las heces líquidas después del día 14 persistió hasta finalizar el periodo experimental, en donde todos los Tratamientos mostraron tener una consistencia normal (2.40 ± 0.364). En suma, los resultados muestran un beneficio de las actividades enzimáticas sobre la fitasa y los efectos se notaron solo durante la primera semana, tiempo en el que los animales aprendieron a consumir alimento (Brooks *et al*, 2001; Bruinix *et al*, 2002).

Cuadro 5. Comportamiento productivo de lechones destetados ^a.

Inclusión de pasta de soya ^b	Tratamientos				EEM ^c	SOY	ENZ	SOY×
	Baja		Alta			<i>P</i> <	<i>P</i> <	ENZ <i>P</i> <
Inclusión de enzimas ^d	No	Si	No	Si				
Número de observaciones	23	23	23	23				
Peso inicial, kg	6.25	6.22	6.24	6.24	0.246	0.99	0.94	0.94
Respuesta a los 7 días posdestete.								
Consumo de alimento, kg/d	0.11	0.11	0.11	0.11	0.003	0.19	0.43	1.00
Ganancia de peso, kg/d	0.01	0.03	0.01	0.03	0.007	0.71	0.02	0.60
Eficiencia alimenticia, kg	0.11	0.22	0.11	0.28	0.074	0.68	0.07	0.69
Consistencia de las heces ^f	2.68	2.90	3.02	3.07	0.108	0.83	0.04	0.26
Respuesta acumulada a los 42 días posdestete.								
Consumo de alimento, kg/d	0.60	0.57	0.59	0.59	0.013	0.82	0.17	0.46
Ganancia de peso, kg/d	0.34	0.33	0.32	0.33	0.011	0.46	0.78	0.45
Eficiencia alimenticia, kg	0.57	0.58	0.55	0.57	0.018	0.32	0.59	0.66
Consistencia de las heces ^f	2.40	2.40	2.36	2.42	0.076	0.25	0.91	0.76

^a Medias de mínimos cuadrados provenientes de lechones machos y hembras (50% machos castrados y 50% hembras).

^b La inclusión de pasta de soya fue: Fase 1, 12%; Fase 2, 16%, Fase 3, 20% para las dietas bajas en soya y Fase 1, 24%; Fase 2, 31.7%; Fase 3, 32% para las dietas altas en soya.

^c EEM = Error estándar de la media, del efecto de Tratamientos.

^d En adición a fitasa las enzimas que se incluyeron en los Tratamientos fueron: Ronozyme[®] VP, 0.30 kg/t; Ronozyme[®] ProAct, 0.20 kg/t y Ronozyme[®] HiStarch, 0.15 kg/t a expensas del grano de sorgo.

^f Escala subjetiva del 1 al 5, en donde: 1 = secas y duras; 2 = normales; 3 = pastosas, y 4 = semilíquidas y 5 = líquidas.

Como se describió en material y métodos, al finalizar el experimento se indagó si el peso al destete influyó en la respuesta a los Tratamientos, por lo que se clasificaron las UE en función del peso al destete en dos categorías (CAT): Ligeros vs. Pesados, resultando en un peso promedio de 4.44 ± 0.600 kg vs. 6.72 ± 0.738 kg; teniendo 20 UE de lechones Ligeros (22% de la población) y 72 UE de lechones Pesados (78% de la población). En el Cuadro 6, se muestran los resultados al analizar CAT y su interacción con los Tratamientos. En la primera semana posdestete, los lechones que se calificaron como Ligeros consumieron aproximadamente un 9% menos alimento que lo consumido por los cerdos Pesados ($P < 0.01$), y mostraron una mejor GDP ($P < 0.01$; 40 vs. 20 g; EEM, 0.037) y mayor GxC ($P < 0.01$; 0.44 vs. 0.12 kg; EEM 0.353) quizá porque proporcionalmente consumieron más alimento (en función de su peso corporal) que los lechones pesados (2.30 vs. 1.60% del peso al destete en Ligeros y Pesados respectivamente). La CAT no influyó en la estrategia de utilización de SOY en la dieta ($P > 0.15$), ni se encontró alguna interacción entre los Tratamientos y CAT ($P > 0.47$).

Al analizar las respuestas en el crecimiento por el uso de EEX son independientes de la CAT de los cerdos y se observan solo durante la primera semana, cuando la transitoria insuficiencia digestiva es más notoria en los lechones (Corring *et al*, 1978; Kim *et al*, 2003). El haber reducido la variación en el peso al destete de las UE (por los procedimientos de aleatorización), hizo que las consecuencias del estrés ambiental y social fueran menores en los lechones ligeros. El crecimiento de los cerdos por CAT se muestra en la Figura 9A, como el peso promedio por UE en función del tiempo \pm una desviación estándar (barras de error). Las líneas de tendencia representan el incremento del peso corporal en el tiempo, y muestran

el crecimiento convergente de los lechones ligeros en relación con los pesados, en donde, al destete, los lechones ligeros pesaban el 66% de los pesados y 42 días después, el 88%. La respuesta que mejor describe el comportamiento del peso fue cuadrática ($P < 0.01$), lo que se muestra en la Figura 9A. Esta respuesta es relevante y se explica porque en ambas CAT el cambio en el peso corporal en función del tiempo fue lento hasta el día 35 de vida, conforme aumentó el tiempo el crecimiento se aceleró. Con la siguiente ecuación se describe la tendencia de comportamiento del peso corporal de los lechones ligeros:

$$Y = (8.211 \pm 1.096) - (0.356X \pm 0.058) + (0.008X^2 \pm 0.001), P < 0.001, R^2 = 0.94.$$

Para los lechones pesados la ecuación que describe el crecimiento fue:

$$Y = (10.844 \pm 0.484) - (0.383X \pm 0.026) + (0.009X^2 \pm 0.001), P < 0.001, R^2 = 0.96.$$

Donde para ambas ecuaciones:

Y = peso corporal, kg.

X = días de edad.

\pm = desviación estándar del parámetro.

Cuadro 6. Comportamiento productivo de lechones en función a su peso ^a.

Categoría (CAT) ^b	Ligeros	Pesados	EE ^c	CAT <i>P</i> <	EEX ^d <i>P</i> <	SOY ^e <i>P</i> <	INT* <i>P</i> <
Número de observaciones	20	72					
Peso inicial, kg	4.44	6.72	0.733	0.01	0.94	0.073	0.95
Respuesta a los primeros 7 días posdestete.							
Consumo de alimento, kg/d	0.10	0.11	0.018	0.01	0.29	0.40	0.86
Ganancia de peso, kg/d	0.04	0.02	0.037	0.01	0.03	0.95	0.88
Eficiencia alimenticia, kg	0.44	0.12	0.353	0.01	0.06	0.83	0.81
Respuesta acumulada a los 21d posdestete.							
Consumo de alimento, kg/d	0.21	0.28	0.037	0.01	0.34	0.83	0.99
Ganancia de peso, kg/d	0.16	0.17	0.030	0.46	0.40	0.23	0.78
Eficiencia alimenticia, kg	0.79	0.64	0.170	0.01	0.97	0.25	0.98
Respuesta acumulada a los 42d posdestete.							
Consumo de alimento, kg/d	0.55	0.57	0.073	0.34	0.27	0.98	0.91
Ganancia de peso, kg/d	0.33	0.34	0.034	0.20	0.96	0.16	0.02
Eficiencia alimenticia, kg	0.60	0.61	0.085	0.76	0.37	0.34	0.47

^a Medias de mínimos cuadrados provenientes de lechones machos y hembras (50% machos castrados y 50% hembras).

^b En función del peso al destete, se formaron dos grupos de peso (CAT): Ligeros (22%), todas las UE que pesaran menos de 5.05 kg al destete (1 S por debajo de la Media de las UE); Pesados (78%), UE que pesaran más de 5.051 kg al destete.

^c EE = Raíz cuadrada del cuadrado medio del error.

^d En adición a fitasa, las enzimas que se incluyeron en los Tratamientos fueron: Ronozyme[®] VP, 0.30 kg/t; Ronozyme[®] ProAct, 0.20 kg/t y Ronozyme[®] HiStarch, 0.15 kg/t. DSM Nutricional Products México.

^e La inclusión de pasta de soya fue: Fase 1, 12%; Fase 2, 16%, Fase 3, 20% para las dietas bajas en soya y Fase 1, 24%; Fase 2, 31.7%; Fase 3, 32% para las dietas altas en soya.

* INT = Interacción SOY×EEX×SOY.

En el caso de la variación, representada en la Figura 9B, como la desviación estándar de cada una de las UE en el tiempo, se observó que ambas CAT mostraron una tendencia de respuesta cuadrática ($P < 0.01$). Debe notarse, que las desviaciones no son muy diferentes al día 35 de edad y es a partir del día 42 de vida, cuando los lechones se cambiaron de la sala de destete al edificio tipo frente abierto, que las líneas de tendencia muestran con mayor claridad la divergencia; UE de lechones ligeros no tuvieron la capacidad de recuperarse de su condición de lechones pequeños al enfrentar los nuevos eventos de estrés (Figura 9B), mientras que gran parte de los animales de este grupo pudieron alcanzar el peso corporal de los lechones pesados. Esto ha sido discutido por Paredes *et al.*, (2010), en donde los lechones de hasta 2.5 desviaciones estándar por debajo de la media de la población al momento del nacimiento, tienen la capacidad de sobreponerse a su condición de lechones pequeños y más del 40% de estos lechones pueden compensar el crecimiento que no lograron previamente, lo que repercute en el peso al destete.

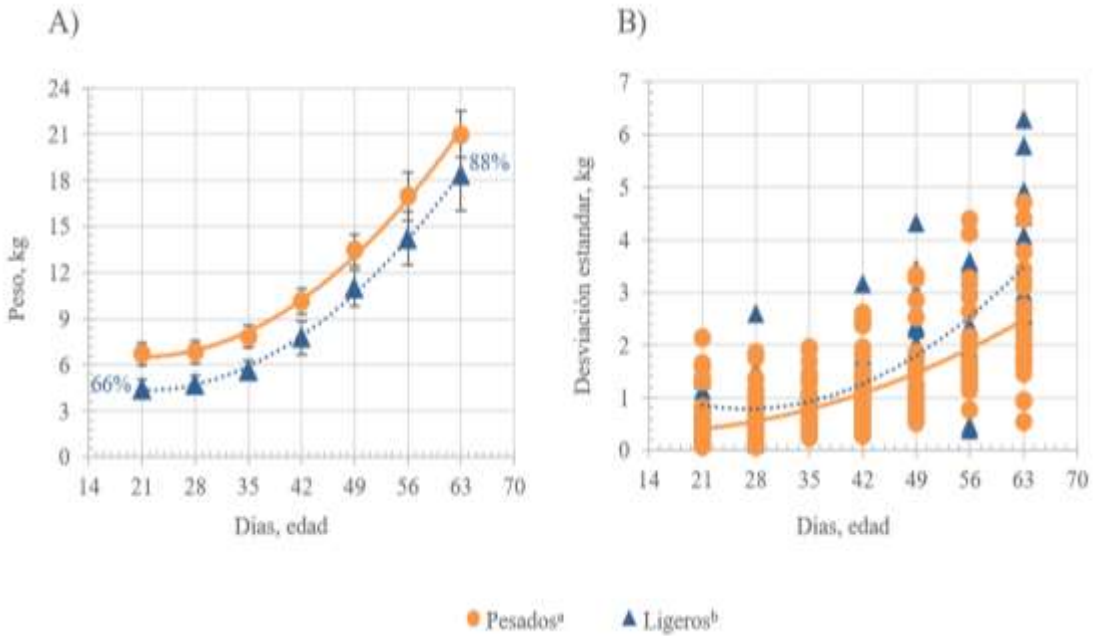


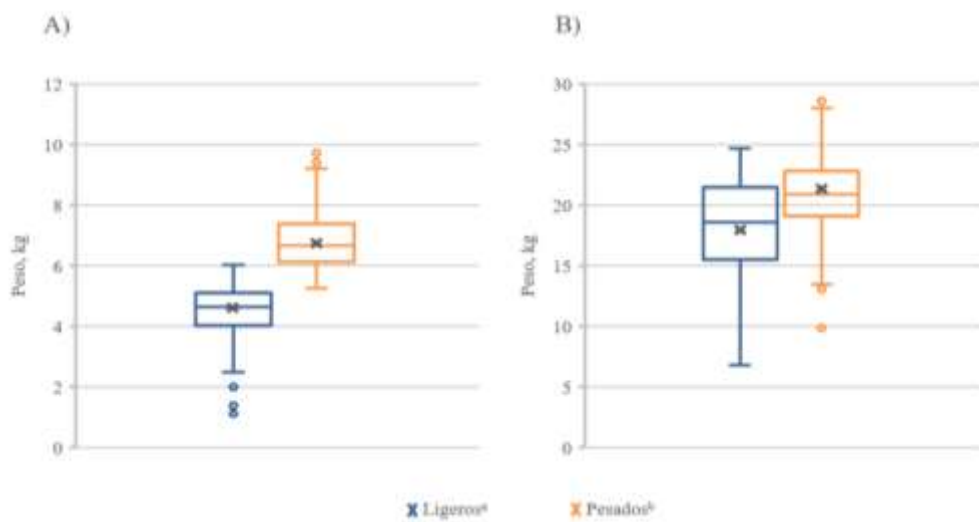
Figura 9. A) Peso corporal promedio por corral en función de la edad y por categorías de peso al inicio del experimento ± una desviación estándar; pesados, 6.73 ± 0.738 kg y ligeros, 4.44 ± 0.600 kg. Al destete los lechones ligeros pesaban el 66% de los pesados, y al día 42, el 88%. 9. B) Desviación estándar por corral en función de la edad en días por categoría de peso.

^a72 corrales con 6 cerdos cada uno

^b20 corrales con 6 cerdos cada uno

Para mostrar esto con mayor claridad, se presentan las Figuras 10A y 10B. En los diagramas de cajas se representan los parámetros de tendencia central como la Media, Moda, y se ejemplifica la forma y distribución del peso individual de los lechones de ambas CAT al momento del destete (10A) y al día 42 de vida (10B). Al destete, es notoria la intervención en la distribución por las prácticas de aleatorización, donde incluso, los lechones ligeros mostraron tener una asimetría negativa con un 2.5% de lechones anormalmente ligeros. En cambio, los lechones pesados tuvieron una asimetría positiva, con un 0.46% de lechones anormalmente pesados, lo que se explica, al tener un mayor número de lechones de menor peso conformando las UE que lechones pesados, y lo podemos observar en la Figura 10A,

donde se representan como observaciones atípicas. Al día 42 posdestete, la asimetría negativa prevaleció en los lechones ligeros con un aumento en la proporción de lechones que llegaron a alcanzar algunos de los de mayor peso, mientras que los lechones pesados mostraron una ligera asimetría negativa (-0.397). La compensación de los lechones de menor peso, pudo ser producto de la disminución de la competencia por la remoción de los lechones pesados, lo que se manifestó en la capacidad de recuperación en etapas posteriores al destete (Douglas *et al*, 2014). Al respecto debe notarse que los lechones ligeros fueron los primeros en consumir alimento, lo que se manifestó con una mejor eficiencia ($P < 0.01$; 0.44 vs. 0.12; EEM, 0.353; Cuadro 6). Además, la GDP de los lechones ligeros que consumieron la dieta con la adición de enzimas fue 100% más que la de los lechones pesados ($P < 0.01$; 40 vs. 20 g/d, EEM, 0.037; Cuadro 6) durante la primera semana posterior al destete.



^a120 lechones

^b432 lechones

Figura 10. A) Distribución segregada por categoría de peso corporal al destete; ligeros, 4.77 ± 0.788 kg y pesados, 6.77 ± 0.906 kg. B) Distribución por categoría del peso corporal al día 42 posdestete; ligeros, 18.14 ± 3.926 kg y pesados, 21.30 ± 2.985 kg.

6.2 Experimento 2

Las variables productivas se muestran como las respuestas acumuladas a 21 y 42 días posdestete. En el Cuadro 7 se presentan los resultados para el efecto mayor de Tratamiento en donde podemos observar que en la respuesta acumulada a 21 días posdestete se encontraron diferencias por efecto del Tratamiento ($P < 0.01$), al analizar las comparaciones planeadas de grado único observamos que, CN (sin antibiótico) fue inferior a CP (con antibiótico) en consumo diario de alimento ($P < 0.01$; 0.24 vs. 0.28 kg; EEM, 0.008), ganancia diaria de peso ($P < 0.01$; 0.14 vs. 0.19 kg; 0.007) y eficiencia alimenticia ($P < 0.01$; 0.58 vs. 0.67 kg; EEM, 0.016), CP mostró ser igual que MUR en CDA ($P > 0.17$; 0.28 vs. 0.27 kg) y mejor en GDP ($P < 0.03$; 0.19 vs. 0.17 kg) lo que resultó en una mejor eficiencia alimenticia ($P < 0.03$; 0.67 vs. 0.62 kg). Para explicar esto, se han propuesto al menos cuatro modos de acción de como los antibióticos mejoran el crecimiento de los animales, 1; inhibición de infecciones subclínicas, 2; disminución de metabolitos microbianos que deprimen el crecimiento, 3; reducción del uso de nutrientes, y 4; mejor absorción y uso de nutrientes (Gaskins *et al*, 2002). Al comparar MUR vs. CN se observaron beneficios en la respuesta productiva de los cerdos que consumieron la dieta con la adición de MUR en CDA ($P < 0.01$; 0.27 vs. 0.24 kg), GDP ($P < 0.04$; 0.17 vs. 0.14 kg) y GxC ($P < 0.04$; 0.62 vs. 0.58 kg), estos resultados estuvieron dentro de lo esperado (por el mecanismo de acción de MUR), al hidrolizar los restos o fracciones (peptidoglucano) de pared celular bacteriana (Klausen *et al*, 2018b), que se producen naturalmente por la tasa de recambio bacteriano (replicación y muerte), y se liberan en el lumen intestinal (Johnson *et al*. 2013). Estos restos de

peptidoglucano pueden provocar la manifestación clínica de una infección bacteriana (Schwandner *et al*, 1999) que pudo haber contribuido en las mejoras de las variables productivas. La misma tendencia se observó a los 42d posteriores al destete, donde CP fue mejor que CN en CDA ($P<0.01$; 0.56 vs. 0.49 kg; EEM, 0.013) y GDP ($P<0.01$; 0.35 vs. 0.30 kg; EEM, 0.009). Al respecto, es importante destacar que las mejoras en GDP y GxC tienen congruencia con lo reportado por Cromwell (2002) donde resumen 443 experimentos con la adición o no de antibiótico en la dieta de lechones de entre 7-25 kg con mejoras de un 16.4% en GDP y 6.9% en GxC, que resultó similar a lo obtenido en este experimento, con mejoras de un 14.29% en GDP y 3.17% en GxC, La dieta de CN fue inferior a MUR en CDA ($P<0.03$; 0.49 vs. 0.52 kg) y GDP ($P<0.04$; 0.30 vs. 0.32 kg), y CP fue mayor a MUR en CDA ($P<0.05$; 0.56 vs.0.52 kg) y GDP ($P<0.01$; 0.35 vs. 0.32 kg) no se encontraron diferencia por efecto del Tratamiento en GxC ($P<0.15$; 0.62 ± 0.051 kg), y los resultados de este trabajo no son diferentes a lo que se ha reportado en pollos de engorda (Lichtenberg *et al*, 2017; Bittencourt *et al*, 2018 y Goodarzi *et al*, 2019), con mejoras en GDP y GxC.

Cuadro 7. Comportamiento productivo acumulado de lechones, a 21 y 42 días posdestete.

	CN ^a	M35 ^b	M50 ^c	CP ^d	EEM ^e	<i>P</i> < ^f
Unidades experimentales ^g	25	25	25	25		
peso inicial promedio, kg	6.61	6.59	6.70	6.62	0.241	0.987
Respuesta acumulativa 0 a 21 días posdestete.						
Consumo de alimento, kg/d ^h	0.24	0.27	0.27	0.28	0.008	0.006
Ganancia de peso, kg/d ⁱ	0.14	0.17	0.17	0.19	0.007	0.001
Eficiencia alimenticia, kg ⁱ	0.58	0.62	0.63	0.67	0.016	0.003
Consistencia de las heces ^j	0.83	0.71	0.64	0.54	0.058	0.005
Respuesta acumulativa de 0 a 42 días posdestete.						
Consumo de alimento, kg/d ^k	0.49	0.52	0.52	0.56	0.013	0.005
Ganancia de peso, kg/d ^k	0.30	0.32	0.32	0.35	0.009	0.001
Eficiencia alimenticia	0.61	0.61	0.62	0.63	0.008	0.155
Consistencia de las heces ^l	0.54	0.47	0.39	0.31	0.035	0.001

^a Dieta basal sin antibióticos.

^b Dieta basal + 0.440 kg / Tm de Muramidasa, con el fin de obtener la adición de 35 x 10³ LSU (F) / kg.

^c Dieta basal + 0.620 kg /Tm de Muramidasa para obtener la adición de 50 x 10³ LSU (F) / kg.

^d Dieta basal + antibióticos; 200 ppm de amoxicilina (Dartamox[®] premix, Animal Care Products) durante la Fases 1 y 2, en la Fase 3, 100 ppm de tiamulina + 300 ppm de Clorotetraciclina (Denagard CTC[®], Elanco Animal Health, México).

^e Error estándar de la media del efecto de Tratamiento.

^f Probabilidad asociada a los Tratamientos.

^g Corrales con un promedio 5.88 cerdos al destete, 22 corrales de 3 machos castrados y 3 hembras; 3 corrales de 3 machos castrados y 2 cerdas jóvenes, todo equilibrado en las repeticiones y equilibradas entre los Tratamientos. Cinco bloques.

^h CN vs. CP, *P* <0.001; CP = M35 y M50, *P* >0.175; CN <M35 y M50, *P* <0.008.

ⁱ CN vs. CP, *P* <0.001; CP > M35 y M50, *P* <0.024; CN <M35 y M50, *P* <0.031.

^j DSM sistema de 4 puntos, calificación: 0 = heces normales, a 3 = diarrea severa. CN vs. CP, *P* <0.001; CP <M35 y M50, *P* <0.049; CN > M35 y M50, *P* <0.035.

^k CN vs. CP, *P* <0.001. CP > M35 y M50, *P* <0.043; CN <M35 y M50, *P* <0.033.

^l DSM sistema de 4 puntos Puntuación: 0 = heces normales, a 3 = diarrea severa. CN vs. CP, *P* <0.001; CP <M35 y M50, *P* <0.006; CN > M35 y M50, *P* <0.013.

Al observar los resultados de consistencia de las heces a los 21 días acumulados, se encontró un efecto asociado a los Tratamientos ($P < 0.01$), y al analizar los contrastes polinómicos observamos que, los cerdos que consumieron la dieta CN mostraron una calificación más alta (0 = heces normales, a 3 = diarrea severa) al comparar con los resultados de los animales que consumieron la dieta con antibiótico (CN vs. CP; $P < 0.01$; 0.83 vs. 0.54; MUR vs. CP; $P < 0.01$; 0.68 vs. 0.54). Para mostrar esto con mayor claridad, se presenta la Figura 11, donde se muestra la prevalencia de diarreas, como la proporción de lechones con diarrea leve y severa (calificación 2 y 3) durante 42 días posteriores al destete, es claro que, durante los primeros siete días posdestete el número de casos con diarrea, aumentaron de forma progresiva, y no es hasta el día 16, que la diarrea comenzó a disminuir, independientemente de los Tratamientos. Debe notarse que, la prevalencia de heces líquidas de los animales que consumieron la dieta de CP y MUR fue menor que la de los animales que consumieron CN, lo que tiene congruencia con los resultados de comportamiento productivo, donde los animales que mostraron tener una mejor respuesta en las variables productivas también tuvieron una menor proporción de casos con diarrea.

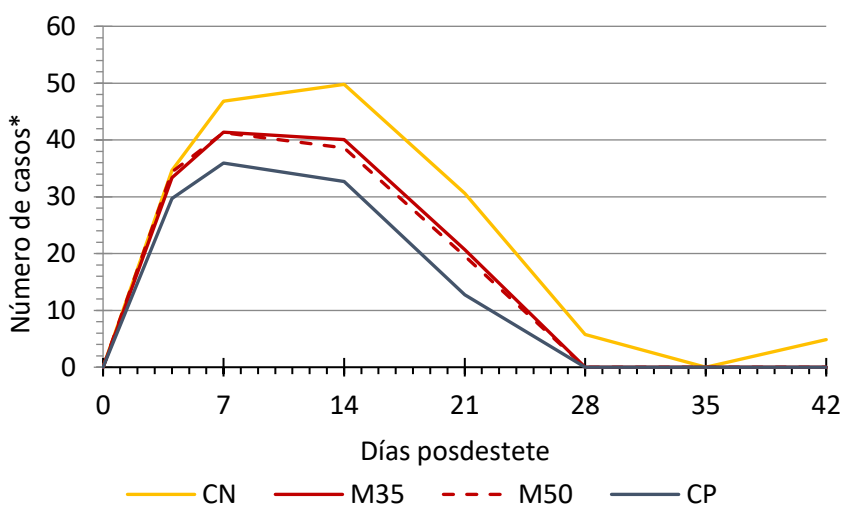


Figura 11. Prevalencia de diarrea (calificación = 2 y 3) a 42 días posdestete (5 Bloques).

*Número de lechones que presentaron diarrea por Tratamiento en el tiempo. Todos los Tratamientos tuvieron el mismo número de sujetos experimentales.

CN = dieta basal sin antibióticos o Muramidasa; M35 = CN + 35×10^3 LSU (F) por kg de alimento; M50 = CN + 0.62 kg / t de Muramidasa, para obtener la adición de 50×10^3 LSU (F) / kg; CP = CN + antibióticos.

Las concentraciones séricas de TNF- α , IL-6, INF γ e IL-10 se determinaron mediante el uso de un Kit E.L.I.S.A. específico para cada citocina (InvitrogenTM), las muestras de plasma se analizaron por duplicado. La respuesta se muestra como el día 0 y el promedio del resultado de dos días consecutivos: 5-6, 8-9, y 22-23 con el fin de reducir la variación. En el tiempo, hubo diferencias significativas en la respuesta de tres citocinas (IL-6, IL-10, INF γ ; $P < 0.001$) con excepción de FNT α ($P < 0.062$) que se mantuvo constante en todas las mediciones. No se encontró interacción Tratamiento por día ($P < 0.923$) ni diferencias por efecto del Tratamiento ($P < 0.955$) en ninguna de las citocinas.

Los valores de TNF- α e IL-6 se encontraron dentro de los rangos reportados antes (Zhu *et al*, 2004 y Che *et al*, 2012) en respuesta a la inoculación de patógenos específicos. Aunque, al

comparar los niveles de IL-6 al día 0, 5-6 y 8-9 de este experimento, con lo reportado por Weibel *et al* (1997), resultaron en aproximadamente el 25% de la respuesta producida por la mayor estimulación inducida por antígenos (4000 vs. 1067 pg/ml), los niveles del día 21-22 de IL6 (400 vs 423 pg/ml) y FNT α (300 vs. 392 pg/ml) fueron muy similares a la respuesta producida por la menor estimulación (Weibel *et al*, 1997), lo que tiene congruencia con los valores encontrados en este experimento. Además, TNF- α porcino se caracteriza por inducir una reducción transitoria pero marcada de la ingesta de alimentos, hipersomnias y disminución en la interacción social (Johnson, 1997), condición que no se observó en el comportamiento de los animales de este experimento, al mostrar un consumo de alimento, ganancia diaria de peso y eficiencia alimenticia dentro de los parámetros del historial de la granja donde se llevó a cabo el trabajo (Pérez *et al*, 2012). En el caso de INF γ , Kruse *et al* (2008) y Hohnstein *et al* (2020), no encontraron presencia de INF γ en cerdos inoculados con antígenos, aun cuando una de sus características es incrementar las funciones microbicidas de los macrófagos en respuesta a agentes extraños (Hernández y Alvarado, 2001). Respecto a IL-10, se ha reportado un incremento en animales que se encuentran en un periodo de recuperación de la enfermedad (Kruse *et al*, 2008), contribuyendo en la disminución de la producción de citocinas proinflamatorias y en consecuencia en la reducción de la inflamación sistémica (Opal y DePalo, 2000). Los valores respuesta de citocinas tienen rangos amplios que se atribuyen a un gran número de factores, incluyendo; método de determinación, tamaño de muestra, intervalo de toma de muestras, grado de estimulación del antígeno, tipo de antígeno y la respuesta del sistema inmune del hospedador. En el caso de este experimento, el no observar picos en la respuesta de ninguna de las citocinas, sugiere que el estrés del destete, los antígenos dietarios, el cambio de Fase de alimentación y de instalaciones no fue

tan agresivo como lo esperado, y se presume que la estimulación inducida para la producción de citocinas fue mínima y bien pudo deberse al manejo y el estatus sanitario de la granja experimental, aun cuando se ha demostrado que el evento del destete está asociado a una inflamación transitoria del intestino al observar un aumento en la expresión de citocinas proinflamatorias (Piè *et al*, 2004; Deng *et al*, 2020). Se observaron valores respuesta que abarcan desde 50 a 2000 pg/ml para FNT α , de 30 a 4000 pg/ml para IL-6, de 44 a 443 pg/ml para INF γ , y de 225 pg/ml a 729 pg/ml para IL-10.

6.3 Experimento 3

Los resultados se presentan en el Cuadro 8, como Energía Bruta, Digestible, Metabolizable, y Neta, se muestra que el adicionar MUR en el alimento a expensas del grano mayoritario de la dieta (sorgo), no tuvo un efecto significativo en el resultado de Energía Bruta ($P>0.937$; CN, 4,062 vs. MUR, 4,070; EEM, 73.79) energía, que no proporciona información de la disponibilidad de la energía disponible para los cerdos y es totalmente independiente de los animales (Kil *et al*, 2013). La Energía Digestible ($P>0.230$; CN, 3,556 vs. MUR, 3,599; EEM, 0.230) y Metabolizable ($P>0.220$; CN, 3,461 vs. MUR, 3,507; EEM, 25.40) fue la misma, con una eficiencia de EM / ED del 97% para ambos Tratamientos, lo que estuvo dentro de los parámetros normales, al ser la relación promedio de EM / ED de aproximadamente un 96% en cerdos en crecimiento con una dieta comercial (Noblet *et al*, 1994), y tiene congruencia con el modo de acción de MUR (Ellison y Giehl, 1991), al no intervenir en procesos de digestión ni metabolización de la energía, lo que explica que la producción de calor durante el metabolismo de los nutrientes fuera la misma para ambos Tratamientos ($P>0.890$; 1,386 vs. 1,363 kcal; EEM, 39.680). La producción de calor en ayunas, que representa el trabajo del metabolismo basal o Energía de mantenimiento, fue mayor en los animales con la dieta de MUR ($P<0.016$; 708 vs. 614 kcal; EEM, 21.370). Los factores que afectan el aumento o disminución del trabajo del metabolismo basal son; edad, sexo, genotipo, estado fisiológico del animal (gestación, lactación, crecimiento), ambiente (Koong *et al*, 1983) termorregulación, activación del sistema inmune, enfermedad, estrés (Webster, 1980), órganos metabólicamente activos, los cuales contribuyen de entre el 25 y el 30% del trabajo del metabolismo basal (Baldwin y Bywater, 1984) y la relación entre proteínas y lípidos corporales (van Milgen *et al.*, 1998; Knap, 2000) el resto, está asociado

con la síntesis de proteína, en mayor proporción la que ocurre en órganos como el hígado y el intestino y después en el músculo esquelético (Koong *et al*, 1983), por lo que se sugiere que la Energía de mantenimiento fue más alta en los cerdos que consumieron la dieta con la adición de MUR por el crecimiento más rápido (Koong *et al*, 1983; van Milgen *et al*, 2001) en la etapa anterior (Exp 2) en el Cuadro 7, se muestran los resultados de comportamiento productivo y observamos que los cerdos que consumieron MUR pesaron un 6.6% más que los cerdos que consumieron la dieta CN. En este sentido, y conociendo el modo de acción de Muramidasa, se sugiere que, al disminuir la carga antigénica del animal, resultaría en aminorar la activación de la respuesta inmune y así, no desviar la energía que estaba destinada para el crecimiento. Como lo ha demostrado Oliver y Wells (2014) donde, cerdos expuestos a un estrés inmunológico crónico, que consumieron una dieta con la adición de antibióticos y lisozima tuvieron niveles más bajos de citocinas proinflamatorias (FNT e IL6), al compararlo con una dieta control. Lo que explicaría la mejor utilización de la Energía Neta ($P < 0.070$; MUR, 2852 vs. CN, 2,689) en los cerdos que consumieron la dieta con la adición de Muramidasa. Con una eficiencia energética EN/ EM de 81% contra 78% y EN / ED 79% contra 76 % de M50 vs. NC respectivamente.

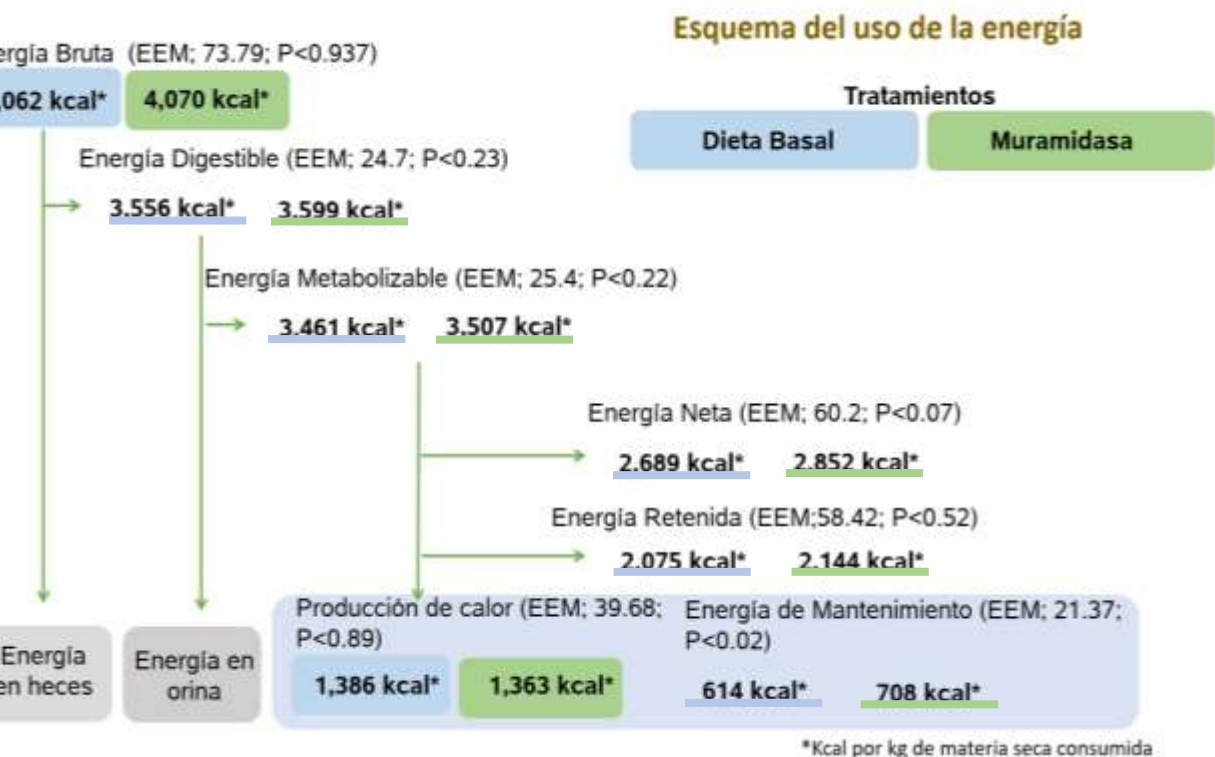


Figura 12. Esquema del uso de la energía, resultados. Dieta basal = control negativo, dieta basal sin adición de Muramidasa; Muramidasa = CN + 0.620 kg / Tm de Muramidasa 50 x 10³ LSU (F) / kg.

Cuadro 8. Energía Neta.

	CN	M50	EEM	P<
Unidades experimentales ^a	8	8		
Energía Bruta, kcal/kg	4,062	4,070		
Energía Digestible, kcal/kg ^b	3,556	3,599	24.73	0.229
Energía Metabolizable, kcal/kg ^c	3,461	3,507	25.40	0.216
Energía Neta*, kcal/kg ^{d,e}	2,689	2,852	60.22	0.070

CN = dieta basal sin antibióticos ni Muramidasa; M50 = CN + 0.620 kg / Tm de Muramidasa, para obtener la adición de 50 x 10³ LSU (F) / kg. ^a EB, ED y EM = mediciones individuales; EN = dos cerdos por unidad experimental. ^b Energía consumida – Energía en heces. ^c Energía digestible - energía en orina. ^d La producción de calor y la producción de calor en ayunas, se calcularon como, kcal / kg = (16.175 O² (L) + 5.021 CO² (L) - 0.958 P (g)).

7. CONCLUSIONES E IMPLICACIONES.

Independientemente del grado de complejidad de la dieta, adicionar actividades enzimáticas exógenas a las dietas de lechones destetados (β -Glucanasa, Pectinasa, Hemicelulasa, α -Amilasa y Proteasa), mostró beneficios en la productividad, sin embargo, estas respuestas se notaron solo durante la primera semana posterior al destete. La adición de Muramidasa sobre el paquete de enzimas mejoró el resultado, es importante destacar que la incidencia y severidad de diarrea pudo ser resuelta tanto por MUR como por la adición de antibióticos, además, se observó una mejor eficiencia de utilización de la energía con MUR lo que se reflejó en un mayor crecimiento. Por esta razón presumimos que la adición de MUR sobre otras enzimas puede ser efectiva en las dietas de lechones recién destetados.

8. BIBLIOGRAFÍA

- **Adeola, O. y Cowieson A. J. 2011.** BOARD-INVITED REVIEW: Opportunities and challenges in using exogenous enzymes to improve nonruminant animal production. *J. Anim. Sci.* 89: 3189-3218.
- **Adeola, O., Lawrence, B. V., Sutton, A. L., Cline, T. R. 1995.** Phytase-Induced Changes in Mineral Utilization in Zinc-Supplemented Diets for Pigs. *J. Anim. Sci.* 73: 3384-3391.
- **A. O. A. C. 1990.** Oficial methods of analysis. 15thed. Arlington, VA, USA: Association of Official Analytical Chemists.
- **Bailey, C. B., Kittss, W. D., Wood, A. J. 1956.** The development of the digestive enzyme system of the pig during its pre-weaning phase of growth. *Can. J. Agric. Econ.* 36: 51-58.
- **Baldwin, R. L. y Bywater A. C. 1984.** Nutritional energetics of animals. *Annu. Rev. Nutr.* 4: 101-114.
- **Bark, L. J., Crenshaw, T. D., Leibbrandt, D. 1986.** The Effect of Meal Intervals and Weaning on Feed Intake of Early Weaned Pigs. *J. Anim. Sci.* 63: 1233-1239.
- **Bedford, M. R., Schulze, H. 1998.** Exogenous enzymes for pigs and poultry. *Nut. Res. Rev.* 11: 91-114.
- **Bedford, M. R. 2000.** Exogenous enzymes in monogastric nutrition-their current value and future benefits. *Anim. Feed. Sci. Technol.* 86: 1-13.
- **Bittencourt, L. C., Hermes, R. G., Fascina, V. B., Garcez, D., Pérez, C. E. 2018.** T171 A novel muramidase improves broilers performance via higher nutrient utilization. *International Poultry Scientific Forum*
https://poultryscience.org/files/galleries/2018_IPSF_Abstracts.pdf.
- **Brooks, P. H., Moran, C. A., Beal, J. D., Demeckova, V., Campbell, A. 2001.** Liquid feeding for the young piglet, in: Varley M.A. Wiseman J. (Eds.), *The weaner pig: nutrition and management*, CAB International, Wallingford, UK.153-178.
- **Brufau, M. T. 2014.** Dietary β -galactomannans have beneficial effects on the intestinal morphology of chickens challenged with *Salmonella enterica* serovar Enteritidis. *J. Anim. Sci.* 93: 238-246.
- **Bruinix, E. M. A. M., Binnendijk, G. P., Van Der Peet-Schwering, C. M. C., Schrama, J. W., Hartog den, L. A., Everts, H. et al. 2002.** Effect of creep feed consumption on

- individual feed intake characteristics and performance of group-housed weanling pigs. *J. Anim. Sci.* 80: 1413-1418.
- **Cario, E., Pudolske, D. K. 2000.** Differential Alteration in Intestinal Epithelial Cell Expression of Toll-Like Receptor 3 (TLR3) and TLR4 in Inflammatory Bowel Disease. *Infect. Immun.* 68: 7010-7017.
 - **Charles, M. M., Rovey, A. M., Guidoni, P., Desnuelle. 1963.** Sur le trypsinogène et la trypsine de porc. *Biochim. Biophys. Acta.* 69: 115-129.
 - **Che, T. M. T., Song, M. Liu, Y., Johnson, R. W., Kelley, K. W., Van Alstine, W. G., Dawson, K. A., Pettigrew, J. E. 2012.** Mannan oligosaccharide increases serum concentrations of antibodies and inflammatory mediators in weanling pigs experimentally infected with porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *J. Anim. Sci.* 90: 2784–2793.
 - **Cohn, M. T., Schnorr, K. M., Skov, L. K., Schmidt, E.G.W., Olsen, P. B., Buskov, S., Aureli, R., et al. 2018.** Hydrolysis of microbial turnover products in the gut: a case study in broiler chickens in 1st International Conference on Microbial Food & Feed Ingredients. Copenhagen, Denmark. 36.
 - **Colditz, I. G. 2002.** Effects of the immune system on metabolism: implications for production and disease resistance in livestock. *Livest. Prod. Sci.* 75: 257-268.
 - **Corring, T., Aumatritre, A., Durand, G. 1978.** Development in Digestive Enzymes in the piglets from birth to 8 weeks. *Nutr. Metab.* 22: 23-243.
 - **Cranwell, P. D. 1995.** Development of the neonatal gut and enzyme systems. In: M.A. Varley. *The Neonatal Pig: Development and Survival.* CAB International, Wallingford. 99-154.
 - **Cranwell, P. D. 1985.** The development of acid and pepsine (EC 3.4.23.1) secretory capacity in the pig; the effects of age and weaning. *Brit. J. Nutr.* 54: 305-320.
 - **Cranwell, P. D. y Hansky, J. 1980.** Serum gastrin in newborn, sucking and weaned pigs. *Res. Vet. Sci.* 29: 85-88.
 - **Cromwel, G. L., Stahlp, T. S., Coffey, R. D., Monegue, H. J., Randolph, J. H. 1992.** Efficacy of Phytase in Improving the Bioavailability of Phosphorus in Soybean Meal and Corn-Soybean Meal Diets for pig. *J. Anim. Sci.* 73: 1831-1840.

- **Cromwell, G. L. 2002.** Why and how antibiotics are used in swine production. *Anim. Biotechnol.* 13: 7-27.
- **Dantzer, R. 2004.** Cytokine-induced sickness behavior: a neuroimmune response to activation of innate immunity. *Eur. J.* 500: 399-411.
- **de Lange, C. F. M., Nyachoti, C. M., Verstegen, M. W. A. 2000.** Feed evaluation, principles and practice. Moughan, P. J., Verstegen, M. W. J., Visser-Reyneveld, M. *Feed Evaluation-Principles and Practice.* Wageningen Pers, Wageningen, The Netherlands, pp. 169-188.
- **de Lange, C. F. M. y Birkett, S. H. 2005.** Characterization of useful energy content in swine and poultry feed ingredients. *Can. J. Anim. Sci.* 85: 269-280.
- **de Lange, C. F. M., Pluske, J., Gong, J., Nyachoti, C. M. 2010.** Strategic use of feed ingredients and feed additives to stimulate gut health and development in young pigs. *Livest. Sci.* 134: 124-134.
- **Departamento de la Facultad de Química, UNAM. Archivero.** Cadenas alternantes de N-acetilmurámico y N-acetilglucosamina. Recuperado de depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/4ParedPeriplasma_26631.pdf. Consultado en diciembre del 2020.
- **Deng, Q., Tan, X., Wang, H., Wang, Q., Huang, P., Li, Y., Li, J., Huang, J., Yang, H., Yin, Y. 2020.** Changes in cecal morphology, cell proliferation, antioxidant enzyme, volatile fatty acids, lipopolysaccharide, and cytokines in piglets during the post-weaning period. *J. Anim. Sci.* 98:1-3.
- **Desnuelle, P., Reboud, J. P., Abdeljlil, B. A. 1962.** Influence of the Composition of the Diet on the Enzyme Content of Rat Pancreas. 1sted. London: Novartis Foundation Symposia.
- **Diario Oficial de la Federación. 2010.** Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio. Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999 (miércoles 22 de agosto).
- **Douglas, S. L., Edwards, S. A., y Kyriazakis, I. 2014.** Management strategies to improve the performance of low birth weight pigs to weaning and their long-term consequences. *J. Anim.* 92: 2280–2288.

- **Duchmann, R., Kaiser, I., Hermann, E., Mayet, W., Ewe, K., Meyer, K. H. 1995.** Tolerance exists towards resident intestinal flora but is broken in active inflammatory bowel disease (IBD). *Clin. Exp. Immunol.* 102: 448-455.
- **Duchmann, R., Neurath, M. F., Meyer zum Büschenfelde, K. H. 1997.** Responses to self and non-self intestinal microflora in health and inflammatory bowel disease. *Res. Immunol.* 148: 589-94.
- **Dziarski, R. 1991.** Demonstration of Peptidoglycan-binding Sites on Lymphocytes and Macrophages by Photoaffinity Cross-linking. *J. Biol. Chem.* 266: 4713-4718.
- **Ellison, R. T. G. y Giehl, T. J. 1991.** Killing of Gram-negative Bacteria by Lactoferrin and Lysozyme. *J. Clin. Invest.* 88: 1080-1091.
- **Fersht, A. 1985.** Book Reviews: Enzymes Structure and Mechanism. 2nded. W.H. Freeman and Company. New York. 311-346.
- **Fleming, A. 1922.** On a Remarkable Bacteriolytic Element Found in Tissues and Secretions. *Proc. R. Soc. Lond.* 30: 6-317. **Folk, J. E. y Schirmer, E. W. 1963.** The porcine pancreatic carboxypeptidase a system. I. Three forms of active enzyme. *J. Biol. Chem.* 238: 3884-3894.
- **Foltmann, B., Jensen, A.L., Lonblad, P., Smidt, E., Axelsen, N. H. 1981.** A developmental analysis of the production of chymosin and pepsin in pigs. *Comp. Biochem. Physiol.* 68b: 9-13.
- **Friesen, K. G., Goodband, R. D., Nelssen, J. L., Blecha, F., Reddy, D. N., Reddy, P. G., Katset, L. J. 1993.** The Effect of Pre- and Postweaning Exposure to Soybean Meal on Growth Performance and on the Immune Response in the Early-Weaned Pig. *J. Anim. Sci.* 71: 2089-2098.
- **Gaskins, H. R., Collier, C. T., Anderson, D. B. 2002.** ANTIBIOTICS AS GROWTH PROMOTANTS:MODE OF ACTION. *Animal Biotechnology* 13: 29-42.
- **Gerrits, W., van de Borne, J., Labossière. 2015.** Deriving heat production from gaseous exchange: validity of the approach. En: *Indirect calorimetry Techniques, computations and applications.* The Netherlands: Wageningen Academic Publishers. 19-24.

- **Goodarzi B. F., Männer, K., Rieger, J., Pérez, C. E., Zentek, J. 2019.** Evaluation of a microbial muramidase supplementation on growth performance, apparent ileal digestibility, and intestinal histology of broiler chickens. *Poult. Sci.* 5: 2080-2086.
- **Hampson, D. J. y Langford, M. 1986.** Alterations in piglet small intestinal structure at weaning. *Res. Vet. Sci.* 40: 32–40.
- **Hartman, A. P., Hays, V. W., Baker, R. O., Neagle, H. L., Catron, V. D. 1961.** Digestive development in the young pig. *J. Anim. Sci.* 20: 114-123.
- **Heo, J. M., Kim, J. C., Hansen, C. F, Mullan, B. P., Hampson, D. J., Pluske, J. R. 2009.** Feeding a diet with decreased protein content reduces indices of protein fermentation and the incidence of postweaning diarrhea in weaned pigs challenged with an enterotoxigenic strain of *Escherichia coli*. *J. Anim. Sci.* 87: 2833-2843.
- **Heo, J. M., Opapeju1, F. O., Pluske, J. R., Kim, J. C., Hampson, D. J., Nyachoti, C. M. 2012.** Gastrointestinal health and function in weaned pigs: a review of feeding strategies to control post-weaning diarrhoea without using in-feed antimicrobial compounds. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 97: 207-37.
- **Hernández, U. M. A. y Alvarado, N. A. 2001.** Interleucinas e inmunidad innata. *Rev. Biomed.* 12: 272-280.
- **Hohnstein, F. S., Meurer, M., de Buhr, N., von Köckritz-Blickwede., Baums, C. G., Alber, G., Schütze N. 2020.** Analysis of Porcine Pro-and Anti-Inflammatory Cytokine Induction by *S. suis* In Vivo and In Vitro. *Pathogens.* 40: 1-17.
- **Holland, R. E. 1990.** Some Infectious Causes of Diarrhea in Young Farm Animals. *Clin. Microbiol. Rev.* 3: 345-375.
- **Howard, B. Y. F. y Yudkin, J. 1963.** Effect of dietary change upon the amylase and trypsin activities of the rat pancreas. *Br. J. Nutr.* 17: 281-295.
- **International Union of Biochemistry and Molecular Biology.** Recommendations on Biochemical & Organic Nomenclature, Symbols & Terminology etc. [Internet]. London: University of London, Queen Mary, Department of Chemistry; [updated 2006 Jul 24; cited 2007 Feb 22]. Available from: <http://www.chem.qmul.ac.uk/iubmb/>.
- **Johnson, R. W. 1997.** Inhibition of growth by pro-inflammatory cytokines: an integrated view. *J. Anim. Sci.* 75: 1244-1255.

- **Johnson, J. W., Fisher, J. F., Mobashery, S. 2013.** Bacterial cell-wall recycling. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 1277: 54-75.
- **Jollès, P. y Jollès, J. 1984.** What's new in lysozyme research ?. *Mol. Cell. Biochem.* 189: 165–189.
- **Jongbloed, A. W., Mroz, Z., Kemme, P. A. 1992.** The effect of supplementary *Aspergillus niger* phytase in diets for pigs on concentration and apparent digestibility of dry matter, total phosphorus, and phytic acid in different sections of the alimentary tract. *J. Anim. Sci.* 70: 1159-1168.
- **Jones, C. K., Frantz, E. L., Bingham, A. C., Bergstrom, J. R. 2018.** Effects of drought-affected corn and nonstarch polysaccharide enzyme inclusion on nursery pig growth performance. *J. Anim. Sci.* 93: 1703-1709.
- **Josefsson, L. y Lindberg, T. N. D. 1965.** Intestinal dipeptidases I. Spectrophotometric determination and characterization of dipeptidase activity in pig intestinal mucosa. *Biochim. Biophys. Acta.* 105: 149-161.
- **Kateryna, Kon.** Pared celular bacteriana. Peptidoglucanos. Recuperado de <https://es.dreamstime.com/estructura-de-la-pared-celular-grampositiva-de-las-bacterias-image84181826>. Consultado en octubre del 2018.
- **Kelly, B. Y. D., Smyth, J. A., McCracken, K. J. 1991.** Digestive development of the early-weaned pig. *Br. J. Nutr.* 65: 169-180.
- **Kidder, D. E., Manners, M. J. 1978.** Digestion in the Pig. Scientechical, Bristol.
- **Kil, D. Y., Kim, B. G., Stein, H. H. 2013.** Feed Energy Evaluation for Growing Pigs. *Asian Australas. J. Anim. Sci.* 26: 1205-1217.
- **Kim, S. W., Knabe, D. A., Hong, K. J., Easter, R. A. 2003.** Use of carbohydrases in corn – soybean meal-based nursery diets. *J. Anim. Sci.* 2496-2504.
- **Kim, J. C., Hansen, C. F., Mullan, B. P., Pluske, J. R. 2012.** Nutrition and pathology of weaner pigs: Nutritional strategies to support barrier function in the gastrointestinal tract. *Anim. Feed. Sci. Technol.* 173: 3-16.
- **Kim, J. C., Mullan, B. P., Hampson, D. J., Pluske, J. R. 2008.** Addition of oat hulls to an extruded rice-based diet for weaner pigs ameliorates the incidence of diarrhoea and

reduces indices of protein fermentation in the gastrointestinal tract. *Br. J. Nutr.* 99: 1217-1225.

- **Kim, S. W., Knabe, D. A., Hong, K. J., Easter, R. A. 2001.** Use of carbohydrases in corn-soybean meal-based nursery diets. *J. Anim. Sci.* 81: 2496-2504.
- **Kimpe, S. J. D. E., Kengatharan, M., Thiemermann, C., Vane, J. R. 1995.** The cell wall components peptidoglycan and lipoteichoic acid from *Staphylococcus aureus* act in synergy to cause shock and multiple organ failure. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 92: 10359-10363.
- **Klausen, M., Pragai, Z., López-ulibarri, R., Cohn, M. 2018.** characterisation of a novel fungal muramidase. Abstracts of the International Poultry Scientific Forum Georgia World Congress Center, Atlanta, Georgia. January 29-30.
- **Knap, P. 2000.** Variation in maintenance requirements of growing pigs in relation to body composition. A simulation study. Ph. D. Thesis, University of Wageningen, Wageningen, The Netherlands.
- **Koong, L. J., Nienaber, J. A., Mersmann, H. J. 1983.** Effects of plane of nutrition on organ size and fasting heat production in genetically obese and lean pigs. *J. Nutr.* 113: 1626-1631.
- **Koong, L. J., Nienaber, J. A., Jerome, C. P., Yen, J. T. 2018.** Effects of Plane of Nutrition on Organ Size and Fasting Heat Production in Pigs. *J. Nutr.* 112: 1638-1642.
- **Kruse, R., Essén-Gustavsson, B., Fossum, C., Jensen-Waern, M. 2008.** Blood concentrations of the cytokines IL-1beta, IL-6, IL-10, TNF-alpha and IFN-gamma during experimentally induced swine dysentery. *Acta. Vet. Scand.* 50: 1-7.
- **Le Dividich, J. y Herpin, P. 1994.** Effects of climatic conditions on the performance, metabolism and health status of weaned piglets: a review. *Livest. Prod. Sci.* 38: 79-90.
- **Le Dividich, J. y Sève, B. 2000.** Effects of underfeeding during the weaning period on growth, metabolism, and hormonal adjustments in the piglet. *Domest. Anim.* 19: 63-74.
- **Le Bellego, L., van Milgen, J., Dubois, S., Noblet, J. 2018.** Energy utilization of low-protein diets in growing pigs. *J. Anim. Sci.* 79: 1259-1271
- **Lehninger, L. A., Nelson, L. D., Cox, M. M. 1995.** Principios de bioquímica. Segunda ed. Barcelona. Referente al capítulo ocho. Enzimas. En Omega, S.A. 199-236.

- **Li, S., Sauer, W. C., Huang, S. X., Gabert, V. M. 1996.** Effect of beta-glucanase supplementation to hullless barley- or wheat-soybean meal diets on the digestibility of energy, protein, beta-glucans, and amino acids in young pigs. *J. Anim. Sci.* 74: 1649-1656.
- **Lichtenberg, J., Perez, C. E., Madsen, K., Østergaard, L. T., Birkved, K. F., Van Cauwenberghe, S. et al. 2017.** Safety evaluation of a novel muramidase for feed application. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 89: 57-69.
- **Lindemann, M. D., Cornelius, S. G., Kandelgy, S. M., El Moser, R. L., Pettigrew, J. E. 1986.** Effect of age, weaning and diet on digestive enzyme levels in the piglet. *J. Anim. Sci.* 62: 1298-1307.
- **Littell, R. C., Henry, P. R., Ammerman, C. B. 1998.** Statistical Analysis of Repeated Measures Data Using SAS Procedures. *J. Anim. Sci.* 76: 1216-1231.
- **Manual de buenas prácticas de producción en granjas porcícolas. 2004.** 1sted. Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A. C. Hermosillo, Sonora. 18-37.
- **Mavromichalis, I. 2006.** Applied Nutrition for Young Pigs. Sow's Milk. 1st ed. Wallingford, UK, Cambridge, MA. 52.
- **Montagne, L., Cavaney, F. S., Hampson, D. J., Lallès, J. P., Pluske, J. R. 2004.** Effect of diet composition on postweaning colibacillosis in piglets. *J. Anim. Sci.* 82: 2364–2374.
- **Noblet, J., Le Dividich., y Bikawa, T. 1985.** Interaction between energy level in the diet and environmental temperature on the utilization of energy in growing pigs. *J. Anim. Sci.* 61: 452-459.
- **Noblet, J., Etienne, M. 1986.** Effect of energy level in lactating sows on yield and composition of milk and nutrient balance of piglets. *J. Anim. Sci.* 63: 1888–1896.
- **Noblet, J., Fortune, X. S., Dubois, S. 1994.** Prediction of net energy value of feeds for growing pigs. *J. Anim. Sci.* 72: 344-353.
- **NRC. Nutrient Requirements of Swine. 2012.** 11thed. Washington, DC: The National Academies Press.
- **Núñez, M. C., Bueno, J. D., Ayudarte, M. V., Almendros, A., Rios, A., Suárez, M. D. et al. 1996.** Dietary Restriction Induces Biochemical and Morphometric Changes in the Small Intestine of Nursing Piglets. *J. Nutr.* 126: 933-944.

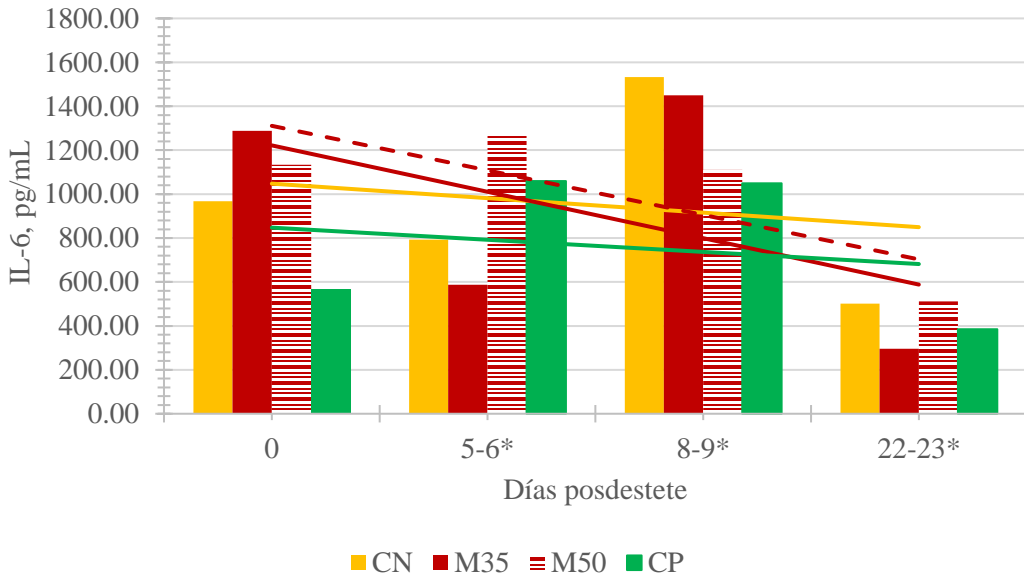
- **Oliver, W. T. y Wells, J. E. 2014.** Lysozyme as an alternative to antibiotics improves growth performance and small intestinal morphology in nursery pigs. *J. Anim. Sci.* 91: 3129-3136.
- **Opal, S. M., DePalo, V. A. 2000.** Anti-Inflammatory Cytokines. *Chest.* 4: 1162-1172.
- **Paredes, S. P., Jansman, A. J. M., Verstegen, M. W. A., Awati, A., Buist, W., Hartog, L. A Den. 2010.** Analysis of factors to predict piglet body weight at the end of the nursery phase. *J. Anim. Sci.* 3243-3251.
- **Pérez, C. E. 2018.** Fecal scoring system. Research & Development Nutrition Innovation Centre, Village Neuf (France). Comunicación personal.
- **Pérez, A. M. A., Cervantes, L. J., Braña, V. D., Mariscal, L. G., Cuarón I. J. A. 2012.** Ácido benzoico y un producto basado en especies de *Bacillus* para proteger la productividad de los lechones y al ambiente. *Rev. Mex. Cien. Pec.* 4: 447-468.
- **Piè, S., Lallès, J. P., Blazy, F., Laffitte, J., Sève, B., Oswald, I. P. 2004.** Weaning is Associated with an Upregulation of Expression of Inflammatory Cytokines in the Intestine of Piglets. *J. Nutr.* 134: 641-647.
- **Pluske, J. R., Hampson, D. J., Williams, I. H. 1997.** Factors influencing the structure and function of the small intestine in the weaned pig: a review. *Livest. Prod. Sci.* 51: 215-236.
- **Pluske, J. R., Pethick, D. W., Hopwood, D. E., Hampson, D. J. 2002.** Nutritional influences on some major enteric bacterial diseases of pigs. *Nutr. Res. Rev.* 15: 333-371.
- **Rodwell, W. V., Bender, A. D., Botham, M. K., Kennelly, J. P., Weil, A. P. 2015.** Harper Bioquímica Ilustrada. 30thed. China: McGraw-Hill Global Education Holdings, LLC.
- **Roskoski, R. 2001.** Bioquímica. 1sted. México. D.F: McGraw-Hill Interamericana editors S.A DE C.V.
- **SAS User´s Guide. 2011.** Statistics (Version 9.3, 2nd Ed.). Cary NC, USA: SAS Inst. Inc.
- **Schwandner, R., Dziarski, R., Wesche, H., Rothe, M., Kirschning, C., J. 1999.** Peptidoglycan- and Lipoteichoic Acid-induced Cell Activation Is Mediated by Toll-like Receptor 2. *J. Biol. Chem.* 274: 17406-17409.
- **Schreurs, H. M. G. V. B., Vellenga, L., Wensing, T. H., Breukink, H. J. 2011.** The pathogenesis of the post - weaning syndrome in weaned piglets; a review. *Vet. Q.* 14:29-34.

- **Si Lhyam, M., Kinoshita, K., Shimogiri, T., Ibrahim, R. H., Tomohiro Tsusaki, T., Tanoue, T., Kawabe, K., Maeda, Y., Okamoto, S. 2012.** Effect of polymorphism in egg white lysozyme on muramidase and antibacterial activities as well as hatchability in the Japanese quail (*Coturnix japonica*). *J. Anim. Sci.* 90: 1747-1755.
- **Smith, B. N., Dilger, R. N. 2018.** Immunomodulatory potential of dietary soybean-derived isoflavones and saponins in pigs. *J. Anim. Sci.* 96: 1288-1304.
- **Spurlock, M. E., Mills, P., Louis, S. 1997.** Regulation of Metabolism and Growth During Immune Challenge: An Overview of Cytokine Function. *J. Anim. Sci.* 75: 1773-1783.
- **Suradhat, S. 2006.** Relationships between the immune system and stress reactivity in pig: visualizing the immuno-neuroendocrine framework. *Thai. J. Vet. Med.* 36: 9-18.
- **Vahjen, W., Osswald, T., Schäfer, K., Simon, O. 2007.** Comparison of a xylanase and a complex of no starch polysaccharide-degrading enzymes with regard to performance and bacterial metabolism in weaned piglets. *Arch. Anim. Nutr.* 61: 90-12.
- **Vahjen, W., Gläser, K., Schäfer, K., Simon, S. 1998.** Influence of xylanase supplemented feed on the development of selected bacterial groups in the intestinal tract of broiler chicks. *J. Agric. Sci.* 130: 489-500.
- **van Milgen, J., Bernier, J. F., Lecozler, Y., Dubois, S., Noblet, J. 1998.** Major determinants of fasting heat production and energetic cost of activity in growing pigs of different body weight and breed/castration combination. *Br. J. Nutr.* 79: 509-517.
- **van Milgen, J., Noblet, J., Dubois, S. 2001.** Energetic Efficiency of Starch, Protein and Lipid Utilization in Growing Pigs. *J. Nutr.* 2: 1309–1318.
- **Webel, D. M., Finck, B. N., Baker, D. H., Johnson, R. W. 1997.** Time Course of Increased Plasma Cytokines Cortisol, and Urea Nitrogen in Pigs Following Intraperitoneal Injection of Lipopolysaccharide. *J. Anim. Sci.* 75: 1514-1520.
- **Webster, A. J. F. 1980.** The energetic efficiency of growth. *Livestock Prod. Sci.* 7: 243-252.
- **Williams, I. H. 2003.** Growth of the weaned pig. In: Pluske J. R., Le Dividich J., Verstegen M. W. A. Editors. *The weaner Pig: Concepts and Consequences*. Edited Collection. Wageningen: Wageningen Academic Publishers Wageningen, Netherlands.

- **Wilmore, D. W., Shabert, J. K. 1998.** Role of Glutamine in Immunologic Responses. *J. Nutr.* 14: 618-626.
- **Wilson, R. H. y Leibholz, J. 1981.** Digestion in the pig between 7 and 35d of age 2. The digestion of dry matter and the pH of digesta in pigs given milk and soya-bean proteins. *B. J. Nutr.* 45: 321-336.
- **Yi, J. Q., Piao, X. S., Li, Z. C., Zhang, H. Y., Chen, Y., Li, Q. Y., et al. 2013.** The Effects of Enzyme Complex on Performance, Intestinal Health and Nutrient Digestibility of Weaned Pigs. *J. Anim. Sci.* 26: 1181-1188.
- **Zhu, Y., Österlundh, I., Hultén, F., Magnusson, U. 2004.** Tumor necrosis factor- α , interleukin-6, serum amyloid A, haptoglobin, and cortisol concentrations in sows following intramammary inoculation of *Escherichia coli*. *Am. J. Vet. Res.* 65: 1434-1439.
- **Zuo, J., Ling, B., Long, L., Li, T., Lahaye, L., Yang, C., et al. 2015.** Effect of dietary supplementation with protease on the growth performance, nutrient digestibility, intestinal morphology, digestive enzymes and gene expression of weaned piglets. *Anim. Nutr. J.* 1: 276-282.

9. ANEXOS

Figura 1. Concentración de IL-6 (pg/ml).



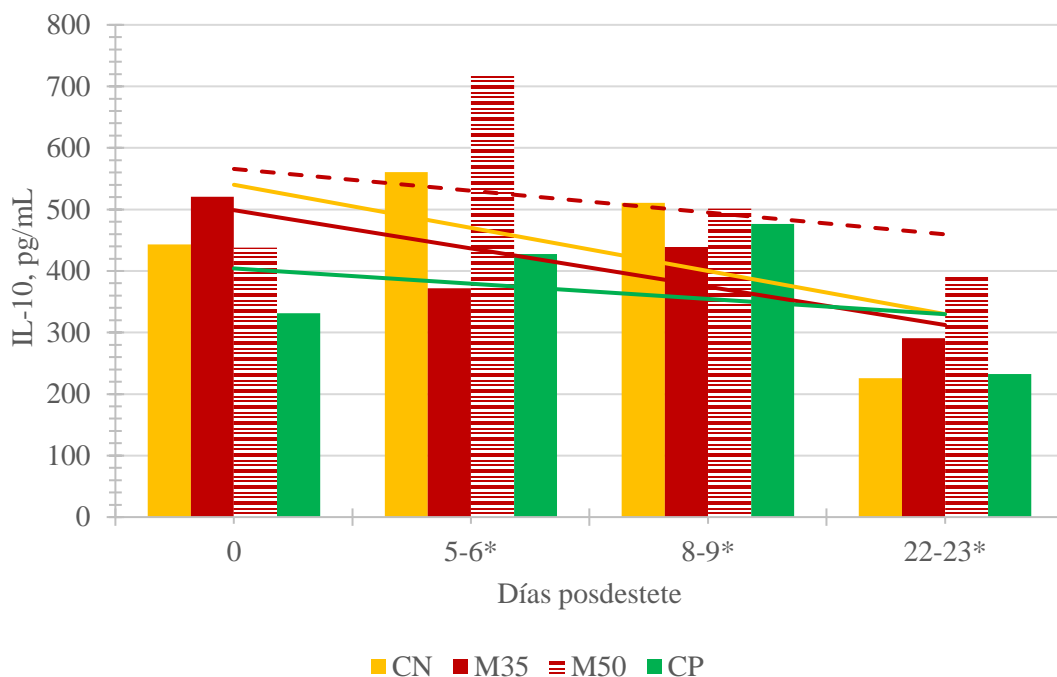
Promedio de dos días consecutivos. CN = dieta basal sin antibióticos o Muramidasa; M35 = CN + 35 x 10³ LSU (F) por Kg de alimento; M50 = CN + 0.620 kg / Tm de Muramidasa, para obtener la adición de 50 x 10³ LSU (F) / kg; CP = CN + antibióticos. Tratamiento ($P > 0.955$; EEM = 267.690). Día ($P > 0.001$; EEM = 156.760). Tratamiento*Día ($P > 0.280$; SEM = 319.820).

Cuadro 1. Respuesta en el tiempo de IL-6 (pg/ml).

Días posdestete	CN	M35	M50	CP
Unidades experimentales	20	20	20	20
0	967.60	1287.59	1134.18	564.73
5-6*	793.09	586.87	1270.21	1059.77
8-9*	1533.08	1449.67	1111.00	1049.07
22-23*	500.74	295.83	511.39	384.12

*Promedio de dos días consecutivos. CN = dieta basal sin antibióticos o Muramidasa; M35 = CN + 35 x 10³ LSU (F) por Kg de alimento; M50 = CN + 0.620 kg / Tm de Muramidasa, para obtener la adición de 50 x 10³ LSU (F) / kg; CP = CN + antibióticos. Tratamiento ($P > 0.955$; EEM = 267.690). Día ($P > 0.001$; EEM = 156.760). Tratamiento*Día ($P > 0.280$; EEM = 319.820).

Figura 2. Concentración de IL-10 (pg/ml).



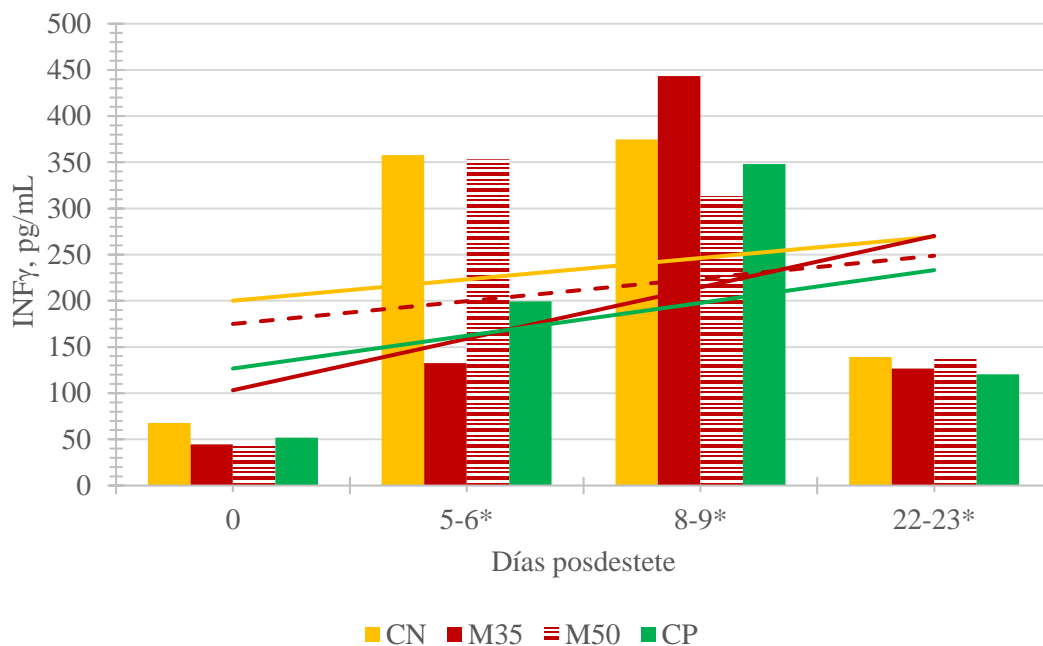
Promedio de dos días consecutivos. CN = dieta basal sin antibióticos o Muramidasa; M35 = CN + 35×10^3 LSU (F) por Kg de alimento; M50 = CN + 0.620 kg / Tm de Muramidasa, para obtener la adición de 50×10^3 LSU (F) / kg; CP = CN + antibióticos.

Cuadro 2. Respuesta en el tiempo de IL-10 (pg/ml).

Días posdestete	CN	M35	M50	CP
Unidades experimentales	20	20	20	20
0	442.95	520.67	437.79	331.23
5-6*	560.51	371.65	719.35	427.75
8-9*	510.78	438.99	501.14	476.53
22-23*	225.96	290.87	392.39	232.33

*Promedio de dos días consecutivos. CN = dieta basal sin antibióticos o Muramidasa; M35 = CN + 35×10^3 LSU (F) por Kg de alimento; M50 = CN + 0.620 kg / Tm de Muramidasa, para obtener la adición de 50×10^3 LSU (F) / kg; CP = CN + antibióticos. Tratamiento ($P > 0.573$; EEM = 74.776). Día ($P > 0.001$; EEM = 45.410). Tratamiento*Día ($P > 0.727$; EEM = 88.893).

Figura 3. Concentración de INF γ (pg/mL).



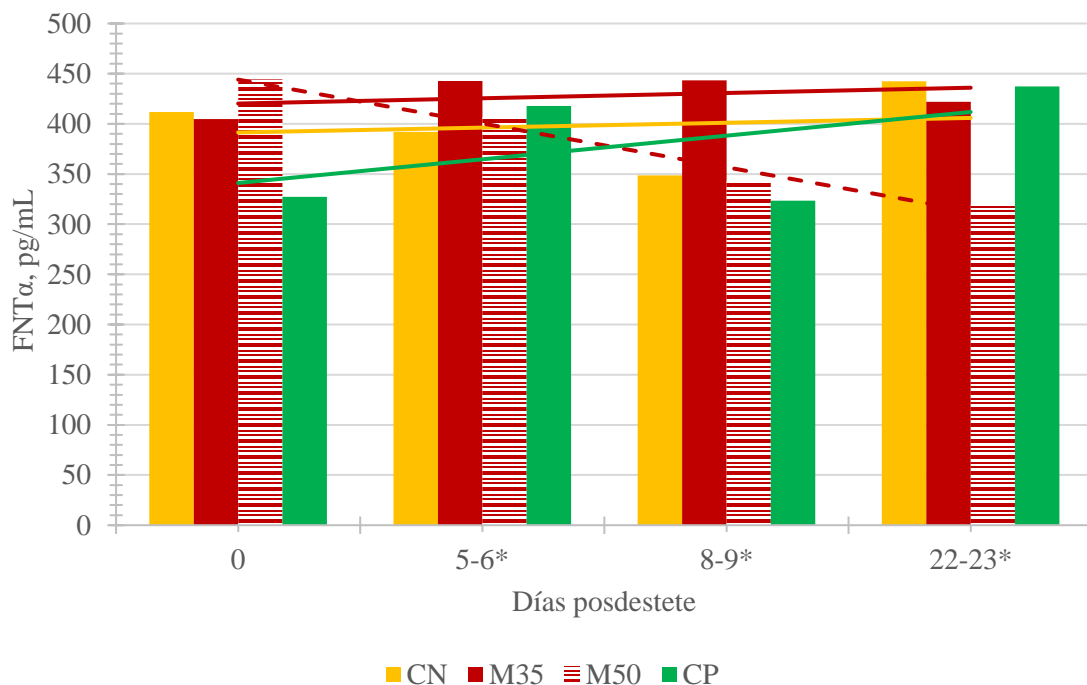
Promedio de dos días consecutivos. CN = dieta basal sin antibióticos o Muramidasa; M35 = CN + 35 x 10³ LSU (F) por Kg de alimento; M50 = CN + 0.620 kg / Tm de Muramidasa, para obtener la adición de 50 x 10³ LSU (F) / kg; CP = CN + antibióticos.

Cuadro 3. Respuesta en el tiempo de INF γ (pg/ml).

Días posdestete	CN	M35	M50	CP
Unidades experimentales	20	20	20	20
0	67.70	44.41	42.82	51.75
5-6*	357.71	132.69	353.16	199.38
8-9*	374.66	443.29	313.51	348.15
22-23*	138.97	126.49	138.07	120.52

*Promedio de dos días consecutivos. CN = dieta basal sin antibióticos o Muramidasa; M35 = CN + 35 x 10³ LSU (F) por Kg de alimento; M50 = CN + 0.620 kg / Tm de Muramidasa, para obtener la adición de 50 x 10³ LSU (F) / kg; CP = CN + antibióticos. Tratamiento ($P > 0.849$; EEM = 68.834). Día ($P > 0.001$; EEM = 45.997). Tratamiento*Día ($P > 0.893$; EEM = 92.893).

Figura 4. Concentración de FNT α (pg/ml).



Promedio de dos días consecutivos. CN = dieta basal sin antibióticos o Muramidasa; M35 = CN + 35 x 10³ LSU (F) por Kg de alimento; M50 = CN + 0.620 kg / Tm de Muramidasa, para obtener la adición de 50 x 10³ LSU (F) / kg; CP = CN + antibióticos.

Cuadro 4. Respuesta en el tiempo de, FNT α (pg/ml).

Días postdestete	CN	M35	M50	CP
Unidades experimentales	20	20	20	20
0	411.75	404.60	444.32	327.38
5-6*	392.01	442.68	406.54	417.68
8-9*	348.49	443.28	343.60	323.29
22-23*	442.35	421.94	319.77	437.40

*Promedio de dos días consecutivos. CN = dieta basal sin antibióticos o Muramidasa; M35 = CN + 35 x 10³ LSU (F) por Kg de alimento; M50 = CN + 0.620 kg / Tm de Muramidasa, para obtener la adición de 50 x 10³ LSU (F) / kg; CP = CN + antibióticos. Tratamiento ($P > 0.564$; EEM = 25.514). Día ($P > 0.062$; EEM = 34.282). Tratamiento*Día ($P > 0.672$; EEM = 60.798).