



UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA

FACULTAD DE VETERINARIA

**EFFECTO DE LA INCLUSIÓN DE INULINA, ALFALFA Y PULPA DE CITRUS EN
DIETAS DE LECHONES SOBRE EL CONSUMO, LA DIGESTIBILIDAD DE LOS
NUTRIENTES Y EL BALANCE DE NITROGENO**

“Por”

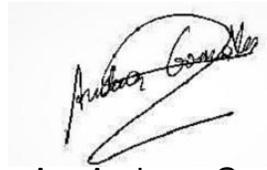
Eduardo MENEZES TEJEIRA

TESIS DE GRADO presentada como
uno de los requisitos para obtener el
título de Doctor en Ciencias Veterinarias
Orientación: Medicina

MODALIDAD: Ensayo Experimental

MONTEVIDEO
URUGUAY
2020

Tesis de grado aprobada por:



Presidente de mesa:

Ing. Ag. Andreas González

nombre completo y firma

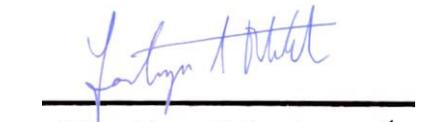
Segundo miembro (Tutor):



Dr. Sebastián Brambillasca

nombre completo y firma

Tercer miembro:



Santiago Monteverde

Ing. Ag. Santiago Monteverde

nombre completo y firma

Fecha:

30/04/2020



Autor:

Br. Eduardo Rafael Menezes Tejeira

nombre completo y firma

AGRADECIMIENTOS

Mis más sinceros agradecimientos a:

Dios por haberme guiado a lo largo de mis estudios y darme la sabiduría necesaria para lograr culminar con éxito mi carrera.

Mi gratitud a la Facultad de Veterinaria, por brindarme formación académica.

A mi tutor Dr. Sebastián Brambillasca, por darme la oportunidad de participar en este experimento, y por su apoyo profesional, durante la realización de este trabajo.

A las funcionarias de biblioteca, por su colaboración en la revisión bibliográfica.

Al departamento de Nutrición y todos sus docentes, por proponer estos trabajos y brindarle formación profesional a los estudiantes.

A todos los docentes, que aportaron sus conocimientos, para que este trabajo fuera posible: Dra. Cecilia Cajarville, Dr. Alejandro Bielli, Dr. Pablo Zunino.

A la Dra. Elena de Torres y personal del campo de Libertad.

A mis compañeros estudiantes, que participaron en este experimento, Melina Hernández, Florencia Pieruccioni, Lucía Rivero, Raúl Zinola, Elena Reyes, Karina Cabrera, Gianina Bertoglio y Carolina Fros, porque sin su apoyo esto no sería posible.

A mi familia que siempre me brinda su afecto, amor, e incentiva a seguir luchando por mis sueños.

A todos los amigos, que siempre me incentivan a seguir adelante.

TABLA DE CONTENIDO

	Página
Página de aprobación	2
Agradecimientos	3
Lista de cuadros y figuras	5
1. Resumen	6
2. Summary	7
3. Introducción	8
4. Revisión bibliográfica	9
4.1 Antibióticos como promotores de crecimiento en producción animal.	9
4.2. Alternativas al uso de antibióticos como promotores de crecimiento.	10
4.3 Efectos adversos de la inclusión de prebióticos y carbohidratos fermentables en la dieta.	13
4.4. Los subproductos y las pasturas de buena calidad como potenciales prebióticos.	14
4.5. Relación fermentación–salud en el intestino.	16
5. Hipótesis	17
6. Objetivos	17
7. Materiales y métodos	18
7.1 Mediciones y cálculos	20
7.1.1. Consumo de alimento, ganancia diaria e índice de conversión.	20
7.1.2. Digestibilidad aparente in vivo, balance de N, características fecales.	20
7.2. Análisis estadístico.	21
8. Resultados	22
8.1. Parámetros productivos y digestibilidad aparente.	22
8.2. Parámetros fecales.	23
8.3. Balance de nitrógeno.	24
9. Discusión	25
10. Conclusiones	28
11. Bibliografía	29

LISTA DE CUADROS Y FIGURAS

	Página
Figura 1. Esquema del período experimental	19
Cuadro I. Ingredientes y composición química de las dietas experimentales, alfalfa y pulpa de citrus frescas utilizadas.	19
Cuadro II. Efecto de la inclusión de los aditivos en la dieta sobre parámetros productivos en lechones.	22
Cuadro III. Efecto de la inclusión de los aditivos en la dieta sobre la digestibilidad aparente de los nutrientes en lechones.	22
Cuadro IV. Efecto de la inclusión de los aditivos en la dieta sobre las características fecales y de la digesta en lechones.	23
Cuadro V. Efecto de la inclusión de los aditivos sobre la ingestión, excreción y retención de N en lechones.	24

1. RESUMEN

Se evaluó el efecto de la inclusión de inulina, alfalfa fresca o pulpa de citrus fresca en dietas para lechones sobre parámetros productivos, consumo de alimento, digestibilidad y balance de N. Se utilizaron 24 lechones de raza híbrida (Landrace x Large White) de 45 días (PV inicial: $9,75 \pm 1,63$ kg; PV final: $18,77 \pm 2,68$) en un diseño de bloques al azar, alojados en jaulas metabólicas y asignados a uno de 4 tratamientos: 100% de una dieta control basada en harina de soja y maíz (CON), 97% CON+3% de inulina (INU), 95,5% CON+4,5% de alfalfa fresca (ALF) y 95,5% CON+4,5% de pulpa de citrus fresca (CIT). El experimento consistió en un período de adaptación de 12 días seguido por 11 días de toma de muestras. Se evaluó el consumo de alimento, parámetros productivos, digestibilidad de los nutrientes, utilización del N y características fecales. La inclusión de aditivos no modificó los parámetros productivos (consumo, ganancia o conversión). Con la inclusión de los aditivos se observó una menor digestibilidad de la proteína bruta, menor retención de N y heces más blandas y húmedas. La inclusión de los aditivos (inulina, alfalfa o pulpa de citrus) a los niveles utilizados no afectó los parámetros productivos, ni tuvo efectos benéficos sobre la excreción de N.

2. SUMMARY

The effect of the inclusion of inulin, fresh alfalfa or fresh citrus pulp in diets for piglets on growth performance, feed intake, digestibility, N balance and fecal parameters was evaluated. Twenty-four cross-breed piglets (Landrace x Large White; initial BW: $9,75 \pm 1,63$ kg; final BW: $18,77 \pm 2,68$) in a randomized complete block design were housed in metabolic cages and assigned to one of 4 treatments: 100% corn and soybean meal control diet (CON), 97% CON+3% inulin (INU), 95,5% CON+4,5% fresh alfalfa (ALF) and 95,5% CON+4,5% fresh citrus pulp (CIT). The experiment consisted of a 12d adaptation period followed by 11 -d for sample collection, Measurements included feed intake, growth performance, digestibility of nutrients, N utilization, fecal characteristics. With the inclusion of the additives there was a lower digestibility of the crude protein, less retention of N and the feces were softer and with higher moisture content. The inclusion of additives (inulin, alfalfa or citrus pulp) in the levels utilized did not affect growth performance parameters, nor were beneficial effects detected on N excretion.

3. INTRODUCCIÓN

Los antibióticos, como promotores del crecimiento en la producción porcina, han demostrado ser muy rentables y eficaces en la mejora del rendimiento de los animales y la reducción de los trastornos digestivos. Sin embargo, debido a su contribución en la generación y dispersión de patógenos humanos resistentes a los antibióticos, su uso ha sido prohibido en la Unión Europea y, por tanto, urge la necesidad de buscar alternativas profilácticas (García y Palomo, 2014).

A fin de reducir el uso indiscriminado de antibióticos en la producción animal, se ha explorado el uso de diversas alternativas entre las que se encuentran probióticos, prebióticos y simbióticos los cuales representan un avance terapéutico potencialmente significativo y seguro (Castro y Rodríguez, 2005). Las empresas suinícolas, para ingresar de forma competitiva en el mercado internacional, deben adaptarse a las nuevas exigencias, de no utilización de antibióticos, incluso conociendo sus beneficios sobre el rendimiento productivo. Entre las ventajas del uso de aditivos como promotores de crecimiento se destaca la ausencia de fenómenos de resistencia bacteriana (Junqueira y col., 2009).

La inclusión en las dietas de componentes que promuevan positivamente la actividad de microbiota intestinal saludable ha sido objeto de intensa investigación. La inclusión de carbohidratos fermentables en las dietas de cerdos puede tener un rol de interés dado que promueve la proliferación de grupos microbianos benéficos para la salud del animal, la producción de ácidos orgánicos, y la reducción de sustancias perjudiciales – ej., aminas biógenas, amoníaco – (Bauer y col., 2006). Además, el crecimiento de la masa microbiana sustentado por la mayor fermentación induce un cambio en la excreción de N de la orina a las heces (Bindelle y col., 2008), lo que podría generar la disminución de productos contaminantes liberados al medio como amoníaco y óxido nitroso. En contraste, la inclusión de fibras fermentables en las dietas puede generar efectos indeseables en relación a disminuciones en el consumo y digestibilidad de los alimentos, mayor excreción fecal y heces más blandas (Bindelle y col., 2008), situación que genera la necesidad de ampliar el estudio de nuevos insumos o ingredientes a incluir en las dietas.

En nuestro país, los subproductos y alimentos fibrosos se utilizan en los sistemas de producción de cerdos. Además, en numerosas explotaciones las pasturas son utilizadas como alimentos en distintas categorías animales. Por tanto, es de interés conocer el efecto de la inclusión de una pastura templada, y de un subproducto fibroso rico en pectinas sobre parámetros digestivos y metabólicos en cerdos. Además, nos interesa comparar el comportamiento de estos alimentos fibrosos con un prebiótico de propiedades conocidas. Este trabajo de tesis intenta abordar esas interrogantes, y se presenta como parte de un proyecto de mayor escala que abarca una Tesis de Maestría (Brambillasca, 2011).

4. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

El sector porcino nacional se caracteriza por la coexistencia de diferentes modalidades productivas y escalas de producción diversas. En la última década se ha reducido el número de productores y el sector se ha concentrado en establecimientos de ciclo completo de mayor escala, muchas veces vinculadas a la industria, comercialización y distribución de cortes frescos o chacinados (Errea y col., 2012).

El total de suinos en Uruguay en el año 2018, según datos de DIEA, era de 171,000 cabezas. En relación a la faena de suinos, en 2018 se faenaron 198.000 cabezas, lo que implicó un volumen de 13.175 toneladas de carne (DIEA, 2019). El consumo a nivel doméstico de carne de cerdo continúa en aumento. Según los datos de DIEA, el consumo de carne de cerdo en el año 2018 fue de aproximadamente 56.507 toneladas, mientras que el consumo per cápita se ubicó en 16,4 kilogramos por habitante (DIEA, 2019).

Los costos en el proceso primario de producción determinan la competitividad del sector, y el 70% de esos costos corresponden a la alimentación de los animales. Es claro que la alimentación constituye uno de los pilares de la producción porcina, y un buen uso de los insumos alimenticios es clave para la rentabilidad de las granjas. Además, la búsqueda de dietas y sistemas de alimentación para aumentar las tasas de ganancia de peso y disminuir los problemas de diarrea que causan serias pérdidas económicas en etapas de destete y pos-destete han sido objeto de muchas investigaciones.

4.1. Antibióticos como promotores de crecimiento en producción animal.

Una de las alternativas que se aplica es la administración de antibióticos en dosis subterapéuticas para prevenir las diarreas. Los antibióticos son compuestos químicos que administrados en pequeñas cantidades impiden el crecimiento de las bacterias. Se emplean, a nivel terapéutico, en las raciones o el agua de bebida, para tratar enfermedades causadas por bacterias. Además, a nivel subterapéutico, se añaden a los piensos para incrementar el ritmo de crecimiento. Los distintos tipos de antibióticos actúan de diferentes maneras para reducir el número de bacterias específicas en el intestino, y de ese modo, mejorar la eficacia de utilización de los nutrientes. El mecanismo de acción que tienen los antibióticos como promotores del crecimiento se consigue reduciendo o eliminando la actividad de bacterias patógenas que pueden causar infecciones subclínicas, lo que permite al animal conseguir niveles de producción cercanos a su potencial (McDonald y col., 2006).

Los antibióticos empleados como promotores del crecimiento se han empleado principalmente en los piensos para cerdos y aves, normalmente a niveles de 20–40 mg/kg, lo que proporciona mejoras de 4–16% en el ritmo de crecimiento, y un 2–7% en la eficiencia de transformación del pienso, además de reducir la mortalidad en los animales jóvenes (McDonald y col., 2006).

El amplio uso de antibióticos, unido a la capacidad de algunas cepas bacterianas para desarrollar resistencias en un breve período de tiempo, así como transferir la resistencia a otras cepas, ha dado lugar a poblaciones de bacterias que son resistentes a los

antibióticos (Witte., 1999; McDonald y col., 2006). La resistencia bacteriana es un fenómeno biológico que permite a los microorganismos multiplicarse en presencia de niveles terapéuticos de antibiótico. Esa resistencia bacteriana puede darse por genes resistentes, por recombinación de ADN exógeno, o por mutación (Haese y Nunes., 2004).

Existe el temor de que, si esas bacterias se hicieran resistentes, resultarían intratables, además de existir el riesgo sanitario hacia los consumidores de productos animales que puedan contener residuos de tipo antibiótico. Por esta razón, en los últimos años se ha prohibido legalmente el empleo de antibióticos como estimulantes del crecimiento. En el año 2000, en los Estados Unidos, sólo se permitía cuatro antibióticos como estimulantes del crecimiento: flavofosfolipol, avilamicina, salinomicina sódica y monensina sódica, (McDonald y col., 2006). En Uruguay se aprobó el “Manual del Programa Nacional de Residuos Biológicos, este en el Capítulo CARNE, prohíbe el uso de promotores de crecimiento y establece sanciones a los productores, en los casos que se detecten residuos de antibiótico en carne (MGAP. 2015).

Desde 2006, los promotores de crecimiento antimicrobiano han sido prohibidos dentro de la UE y el objetivo es el uso mínimo de antibióticos en la producción de alimentos. Se puede esperar un desarrollo similar en otras partes del mundo (Lindberg. 2014).

4.2. Alternativas al uso de antibióticos como promotores de crecimiento.

Ante esta situación, la utilización de aditivos alternativos para evitar la aparición de cepas microbianas resistentes y para lograr mantener la inocuidad alimentaria, ha sido objeto de intensa investigación en los últimos años. El uso de probióticos y prebióticos como aditivos alimentarios alternativos de dietas de rumiantes y monogástricos constituye una opción al uso de antibióticos, y puede ser una estrategia para disminuir la incidencia de enfermedades transmisibles por alimentos (Krehbiel y col., 2003; Callaway y col., 2003).

Los probióticos se definen como suplementos, constituidos por microbios vivos, que benefician a los animales hospedadores mejorando el equilibrio microbiano intestinal (McDonald y col., 2006). Los microorganismos beneficiosos producen enzimas que complementan la capacidad digestiva del hospedador y su presencia proporciona una barrera frente a los agentes patógenos invasores. Los trastornos digestivos son corrientes en los momentos de estrés (por ej., durante el destete) por lo que, en esas circunstancias, es preferible la administración de bacterias deseables, como los *Lactobacillus spp.*, a utilizar antibióticos que destruyen las bacterias tanto beneficiosas como perjudiciales.

Para ser efectivos, los microorganismos deseables no deben resultar perjudiciales para el animal hospedador, deben ser resistentes a los ácidos biliares, deben colonizar el intestino eficientemente, deben inhibir la actividad patogénica, y deben ser viables y estables en las condiciones de producción y almacenamiento industrial (McDonald y col., 2006).

En los animales monogástricos se ha utilizado como probióticos cepas de *Lactobacillus spp.*, *Bacillus subtilis*, *Streptococcus spp.*, *Bifidobacterium spp.*, *Enterococcus spp.*,

algunas levaduras como *Saccharomyces* (*Saccharomyces cerevisiae*) y hongos (*Aspergillus oryzae*). , (McDonald y col., 2006., Garcia y Palomo., 2014). Dentro de los posibles mecanismos de acción de los probióticos a nivel gastrointestinal se incluyen la normalización de la población microbiana alterada, el mejoramiento de la barrera inmunológica intestinal, particularmente a través de la respuesta de IgA secretoria, y la disminución de las respuestas inflamatorias intestinales (Isolauri y col, 2001; Corthési y col, 2007).

Se han propuesto varios mecanismos de acción de los probióticos, entre los que se destaca: a) reducción del pH intestinal debido a los ácidos excretados por los microorganismos probióticos, lo que evita la proliferación de patógenos; b) efecto competitivo de los probióticos que puede deberse a la ocupación de los lugares de colonización; c) capacidad de secreción de antibióticos naturales por los lactobacilos y bacterias bifidogénicas, que pueden tener un amplio espectro de actividad, entre ellos: lactocinas, helveticinas, lactacinas, curvacinas, nicinas y bifidocinas (Figuroa y col. 2006).

Los prebióticos se definen como compuestos distintos a los nutrientes de los alimentos, que modifican el equilibrio de la población de la microflora estimulando el crecimiento de bacterias beneficiosas y, como consecuencia, promocionando un medio ambiente intestinal más sano (McDonald y col., 2006). En general los prebióticos deben cumplir tres condiciones para que tengan una acción efectiva (Collins y Gibson. 1999):

- a) Deben permanecer estables bajo las condiciones ácidas del estómago y las secreciones del intestino delgado.
- b) Deben transferirse intactos al colon.
- c) Deben tener un metabolismo selectivo.

Los oligosacáridos se han considerado modificadores nutritivos beneficiosos para los animales monogástricos. Se encuentran en el grupo de sustancias también denominadas prebióticos. Los oligosacáridos se encuentran de forma natural en los alimentos: la harina de soja, de colza y las leguminosas contienen alfa-galactooligosacáridos (GOS); los cereales contienen fructooligosacáridos (FOS); los productos lácteos poseen transgalactooligosacáridos (TOS); las paredes celulares de las levaduras contienen monooligosacáridos (MOS). Además, se producen comercialmente (McDonald y col., 2006).

Los oligosacáridos no digestibles en general y los fructooligosacáridos en particular son prebióticos: son conocidos como estimulantes del crecimiento de bifidobacterias y lactobacilos, los cuales después de un corto periodo de ingestión del prebiótico predominan en el intestino. Algunas especies de plantas almacenan polímeros de fructosa como reserva de carbohidratos en lugar de glucosa. Estos polímeros incluyen las inulinas y levanos; la mayor parte de ellos se incluyen en el grupo de los fructanos, y se puede extraer de plantas de las familias *Liliaceae*, *Amaryllidaceae*, *Graminae* y *Compositae*, entre otras, Vegetales como achicoria, cebolla, alcachofa, ajo, plátano, son ricos en inulina (Figuroa y col. 2006).

En un estudio, el uso de fructooligosacaridos en suinos en fase de crecimiento y terminación, se asoció a una reducción de la población de *E. coli* y un aumento de las *Bifidobacterias* en el colon distal, en relación al grupo tratado con antibiótico y al grupo control, lo que indica que este prebiótico actuó en la modulación benéfica de la microbitos, contribuyendo a un ambiente intestinal más saludable (Contrera y col., 2009).

Otra alternativa son los simbióticos; este término se usa cuando un producto contiene probióticos y prebióticos, por ejemplo, FOS, o GOS, más el probiótico de interés. Junqueira y col., (2009) estudiaron diferentes aditivos (antibiótico, probiótico, prebiótico y gluconato de sodio) en dietas para cerdos en fases de posdestete, crecimiento y terminación. Observaron que, el desempeño de los animales fue mejor en aquellos que recibieron aditivos en el periodo de 28 a 142 días de edad, y entre los aditivos, el simbiótico fue el más eficiente, ya que proporcionaron los mejores desempeños en ganancia de peso y conversión.

Se considera que la mezcla de probiótico y prebiótico tendría los mecanismos de acción que tienen por separado y que, además, sus efectos podrían ser aditivos o sinérgicos. Se ha encontrado un prebiótico con inulooligosacárido que puede llegar a minimizar la incidencia de diarrea y promover el crecimiento en lechones, al aumentar la población de bifidobacterias en el intestino. Esto se logró identificando el microorganismo específico que inhibe la colonización patógena de *E. coli* en el intestino de lechones y determinando el prebiótico (sustrato) que aumenta el crecimiento de ese tipo de bacterias (Figuroa y col. 2006).

Los carbohidratos fermentables son carbohidratos indigestibles que fermentan en el intestino de los cerdos, produciendo productos finales de fermentación que podrían tener efectos similares a los prebióticos. Los carbohidratos indigestibles por las enzimas que producen los mamíferos en el tubo digestivo pueden denominarse bajo el término general de fibra, Se puede considerar que las paredes celulares de las plantas son las fuentes principales de consumo de fibra dietética en la mayoría de los alimentos, Ello permite definir la fibra desde el punto de vista nutricional como una fracción heterogénea cuyos componentes son resistentes a la actividad enzimática del tracto gastrointestinal (Savón. 2006).

La fracción de carbohidratos se puede dividir de acuerdo con los enlaces glucosídicos en azúcares, oligosacáridos y dos clases amplias de polisacáridos, almidón y polisacáridos sin almidón. Los polisacáridos sin almidón (NSP) junto con la lignina, se han definido como la fracción de fibra dietética (DF) en alimentos y piensos, y se pueden usar como una medida colectiva de su contenido de fibra. Sin embargo, como los oligosacáridos no digeribles y el almidón resistente tienen efectos fisiológicos similares en el cuerpo como el NSP y la lignina, aunque no forman parte de la estructura de la pared celular, la definición debe extenderse para incluir estos componentes. Los componentes de la fibra dietética no son digeridos por enzimas digestivas endógenas y, en consecuencia, son los principales sustratos para la fermentación bacteriana en la parte distal del intestino (Lindberg., 2014).

Las fibras alimentarias solubles (FAS) o totalmente fermentables, son aquellas que forman geles en contacto con el agua. Comprenden a las gomas, mucílagos, pectinas, almidón resistente 2 y 3, algunas hemicelulosas, galactooligosacáridos (GOS), inulina y fructooligosacáridos (FOS). Se encuentran fundamentalmente en frutas, legumbres y cereales como cebada y avena (Olagnero y col., 2007).

4.3. Efectos adversos de la inclusión de prebióticos y carbohidratos fermentables en la dieta.

Una preocupación importante cuando se incluye fibra en las dietas para animales monogástricos es que el alto contenido de fibra dietética se asocia con una menor utilización de nutrientes y bajos valores de energía neta. Sin embargo, el impacto negativo de la fibra dietética en la utilización de nutrientes y el valor energético neto estará determinado por las propiedades de la fibra y puede diferir considerablemente entre las fuentes de fibra. Además, la fibra dietética puede tener otros efectos positivos, como estimular la salud intestinal, aumentar la saciedad, afectar el comportamiento y, en general, mejorar el bienestar animal. A pesar de la evidente necesidad de fibra dietética en la dieta, no se incluye en las tablas de requerimientos de nutrientes (Lindberg., 2014).

Cabe considerar el hecho de que con el avance de la madurez de la planta se incrementan los polisacáridos que forman parte de la pared celular y que son de baja fermentación, como la celulosa, a la vez que lo hacen las uniones de ésta con la lignina, formando compuestos no digestibles (Van Soest., 1994). Sin duda esta será la limitante más importante para el uso de este tipo de insumo en dieta para cerdos. Anderson y Lindberg (1997) han reportado que la inclusión de harina de alfalfa, trébol blanco, trébol rojo y ryegrass perenne en niveles del 10 y 20 % de una dieta control produce en cerdos en crecimiento una disminución de la digestibilidad de la materia orgánica, la proteína bruta y de la energía de las dietas.

Debido a sus características químicas, la fibra de la dieta puede tener diferentes efectos sobre la absorción de nutrientes. Las fibras solubles se relacionan con un aumento en la viscosidad luminal (Rodríguez-Palenzuela y col., 1998) y en la capacidad de retención de agua de la digesta (Canibe y Bach Knudsen. 2001). Owusu-Asiedu y col. (2006) reportaron una menor digestibilidad aparente de la energía y de la proteína bruta junto con un aumento de la viscosidad de la digesta y una disminución en la tasa de pasaje gastrointestinal al suplementar cerdos con goma guar y celulosa. Este aumento en la viscosidad de la digesta se ha relacionado también con disminuciones en la absorción de la glucosa a nivel intestinal (Serena y col., 2009). Adicionalmente, el aumento de la viscosidad del contenido digestivo puede tener como efecto el enlentecimiento del tránsito, llevando a disminuciones en el consumo de alimentos (Rodríguez-Palenzuela y col., 1998).

A pesar de que la inclusión de fibra tiene efectos adversos sobre consumo, la digestibilidad y ganancia de peso, algunos autores mencionan que la inclusión de fibra tiene efectos favorables sobre la eliminación de nitrógeno (N) desplazando, la excreción

de N de la orina a las heces (Bindelle y col., 2008., Patrás y col., 2012). Jarret y col. (2010) estudiando el efecto de sub-productos de la industria de biocombustible ricos en fibra sobre el rendimiento, crecimiento y excreción de N y carbono (C), reportaron que la fibra aumenta el flujo de sustrato de energía fermentativa y N (tanto de exógenos como origen endógeno) en el intestino grueso. En condiciones de fermentación, el amoníaco es parcialmente derivado del torrente sanguíneo y utilizado por la microflora para la nueva síntesis de proteínas bacterianas. Este cambio en la vía de eliminación de N es un medio para disminuir la contaminación por amoníaco u óxido nitroso en las producciones porcinas.

4.4. Los subproductos y las pasturas de buena calidad como potenciales prebióticos.

La pulpa de cítricos ensilada se ha evaluado como una alternativa de alimento en dietas para cerdos en crecimiento, en términos de rendimiento del crecimiento, flora intestinal y calidad de la carne, encontrando que los cerdos pueden adaptar su aparato digestivo a la pulpa de cítricos como fuente carbohidratos de alta fermentación, sin efectos perjudiciales sobre el crecimiento y la calidad de la carne, además de los beneficios potenciales sobre la microbiología intestinal (Londoño y col., 2012). Resultados del Departamento de Nutrición Animal (FVet) indican que la inclusión de fuentes de carbohidratos fermentables como pulpa de citrus y pomaza de manzana en dietas para cerdos produjo una disminución en el pH fecal y una disminución en el recuento de *Clostridium spp.* (Brambillasca y col., 2007).

La composición de la fruta cítrica se ve afectada por factores como las condiciones de crecimiento, madurez, variedad y clima (Kale y Adsule. 1995). Los cítricos contienen N (1–2 g / kg en húmedo), lípidos (oleico, linoleico, linolénico, palmítico, ácidos esteáricos, glicerol y un fitosterol), azúcares (glucosa, fructosa, sacarosa), ácidos (principalmente cítricos y málico, pero también tartárico, benzoico, oxálico y succínico), carbohidratos insolubles (celulosa, pectina), enzimas (pectinesterasa, fosfatasa, peroxidasa), flavonoides (hesperidina, naringina), principios amargos (limonina, isolimonina), peelina (d-limona), componentes volátiles (alcoholes, aldehídos, cetonas, ésteres, hidrocarburos, ácidos), pigmentos (carotenos, xantofilas), vitaminas (ascorbicacid, VitaminBcomplex, carotenoides) y minerales (principalmente calcio y potasio). El contenido de nutrientes del BPF de cítricos está influenciado por factores que incluyen la fuente de la fruta y el tipo de procesamiento (Ammerman y Henry, 1991). De esta forma, la pulpa de citrus, se caracteriza por su alto contenido de fibra soluble 33% (Bampidis y Robinson 2005), por contener pectinas 23- 45 % (Weber y col., 2008), y por sus potenciales beneficios sobre la flora intestinal (Londoño y col., 2012).

La alfalfa es uno de los cultivos forrajeros más populares por su alto contenido de proteína cruda (PC) y minerales, pero también por su alto contenido de fibra (National Research Council, 1998). Se ha reportado que la inclusión de harina de alfalfa en dietas para cerdos favorece el crecimiento de bacterias productoras de butirato, provocando un aumento en la concentración de butirato intestinal (Wang y col. 2018).

Las leguminosas contienen además de sus variados nutrientes, compuestos tales como polifenoles, fibra soluble, α -galactósido y las isoflavanos que le confiere propiedades de alimento funcional, además aportan carbohidratos complejos especialmente almidón, también fibra, vitaminas pertenecientes al grupo B, minerales, como potasio, fósforo, magnesio, zinc y en especial hierro y calcio (Dávila y col; 2003).

Además, la alfalfa es rica en hemicelulosas y las pectinas (Rodríguez Palenzuela y col., 1998). Como otras pasturas presentes en Uruguay, posee paredes celulares muy degradables (Cajerville y col., 2006) y su concentración de carbohidratos solubles aumenta en el transcurso del día producto de la actividad fotosintética de la planta (Repetto y col., 2006).

Está bien demostrado que la fibra dietética juega un papel positivo en el mantenimiento de la diversidad intestinal comunidad microbiana y posterior salud intestinal en humanos y cerdos. Una dieta alta en fibra también puede aumentar la actividad de las bacterias relacionadas con la degradación de la fibra en el intestino grueso de cerdos en crecimiento (Wang y col., 2018).

La inulina abarca todos los fructanos lineales β - (2,1) de diferentes longitudes de cadena (Roberfroid. 2007) y se puede encontrar en varias frutas y verduras, como espárragos, puerros, cebollas, plátanos, trigo y ajo, y en concentraciones más altas en achicoria (familia Compositae) y alcachofa de Jerusalén (*Helianthus tuberosus*). Industrialmente, la inulina se extrae predominantemente de la achicoria (Roberfroid. 2005).

Se ha informado que la inulina mejora la homeostasis en el tracto gastrointestinal (TIG) de los cerdos al modular la microbiota intestinal y la fermentación. La suplementación con inulina en la dieta puede tener la capacidad de reducir el pH gástrico en cerdos destetados. Junto con la tendencia a un mayor nivel de lactato ileal con niveles crecientes de inulina en la dieta, esto puede apoyar una mayor actividad microbiana en el TIG superior (Metzler-Zebeli y col. 2017).

Además, la inulina como suplemento alimenticio mejora los índices de conversión, ganancia diaria y mayor tasa de supervivencia en lechones, presenta actividad hipolipidémica (nivel de colesterol total reducido) y estimula el sistema inmunitario sistémico de los lechones, ya que se manifiesta por concentraciones elevadas de IgA e IgG (Grela y col. 2014).

La otra característica digestiva a destacar de los hidratos de carbono que constituyen la fibra soluble es su fácil fermentabilidad, debido a la buena accesibilidad que presentan para la flora microbiana. Así, una fracción significativa de la fibra soluble es degradada antes de llegar al intestino grueso dando lugar a ácido láctico y ácidos grasos volátiles (AGV). El residuo resultante es degradado en el intestino grueso siendo el principal producto de la fermentación los AGV que juegan un papel importante en la fisiología digestiva del animal, (Rodríguez- Palenzuela y col., 1998).

4.5. Relación fermentación–salud en el intestino.

El mantenimiento de la salud intestinal es complejo y se basa en un delicado equilibrio entre la dieta, la microflora comensal y la mucosa, incluido el epitelio digestivo y el moco que recubre el epitelio. La fibra dietética interactúa tanto con la mucosa como con la microbiota y, en consecuencia, tiene un papel importante en el control de la salud intestinal. La comunidad microbiana compleja en el tracto gastrointestinal (GI) consta de diferentes grupos de microbios, que incluyen bacterias, arqueas, protozoos ciliados y flagelados, hongos ficomicetos anaerobios y bacteriófagos (Lindberg., 2014).

El impacto de la fuente de fibra en la composición de la microbiota intestinal y el microambiente intestinal se demostró muy bien en un estudio reciente sobre achicoria. La inclusión de forraje y raíz de achicoria (*Cichorium intybus L*) en una dieta a base de cereales (trigo y cebada) produce cambios en el microambiente intestinal y la morfología intestinal de los cerdos, mientras que el rendimiento del crecimiento no se vio afectado y la digestibilidad fue solo reducido marginalmente por la inclusión de achicoria. Dentro del tipo de dieta, estos cambios siguieron un patrón similar en el intestino delgado y grueso. Sin embargo, las respuestas dietéticas fueron diferentes con la inclusión de la raíz de achicoria en comparación con el forraje de achicoria. Esto podría estar relacionado con la composición química de la fracción de fibra dietética, donde la raíz se caracteriza por un alto contenido de fructano y oligofructosa de tipo inulina, mientras que el forraje se caracteriza por un alto contenido de pectina. Los productos de fermentación y el pH en la digesta respondieron al tipo de dieta y se correlacionaron con los cambios en la microbiota, lo que demuestra que la achicoria influye en el microambiente intestinal de los cerdos. En el íleon, la inclusión de raíces de achicoria (fructano de tipo inulina y oligofructosa) se relacionó con la concentración de ácido láctico en la digesta y la abundancia relativa de LAB. En el colon, la inclusión de forraje de achicoria (pectina) se asoció con la abundancia relativa de bacterias productoras de butirato y la concentración de acetato en el colon (Lindberg., 2014).

5. HIPÓTESIS

Tomando en cuenta los antecedentes revisados, en este experimento nos planteamos las siguientes hipótesis:

La inclusión de niveles bajos de alfalfa y pulpa de citrus frescas en dietas para lechones:

- a) disminuirá el pH fecal.
- b) provocará una disminución en la eliminación urinaria de N.
- c) no deprimirá el consumo de las dietas, el aprovechamiento digestivo de las mismas, y por tanto no afectará los parámetros productivos.

Algunos de estos efectos serán similares a los que provoca un prebiótico de propiedades conocidas como la inulina.

6. OBJETIVOS

6.1. Objetivo general.

Evaluar el efecto de la inclusión de pulpa de citrus y alfalfa fresca en la dieta de lechones sobre parámetros digestivos y del metabolismo del N.

6.2. Objetivos específicos.

Estudiar el efecto de la inclusión de alfalfa y pulpa de citrus frescas en dietas de lechones sobre:

- a) el consumo de alimento.
- b) el aprovechamiento digestivo de los nutrientes.
- c) las características fecales.
- d) la retención y vías de eliminación de N de la dieta.

7. MATERIALES Y METODOS

El trabajo se desarrolló en el Campo Experimental N° 2 (Libertad, San José) y en el laboratorio de Nutrición Animal (FVET, UDELAR). Se utilizaron 24 lechones, machos, castrados de raza híbrida (Landrace x Large White) de 45 días de edad (PV inicial: $9,8 \pm 1,63$ kg; PV final: $18,8 \pm 2,68$) y fueron alojados individualmente en jaulas metabólicas (0,90 x 1,20 m). En este experimento se formaron 4 grupos de 6 lechones cada uno; los animales fueron bloqueados por Peso Vivo y asignados de manera aleatoria a uno de 4 tratamientos:

CON: dieta control (CON), ración libre de antibiótico basada en maíz y harina de soja.

INU: CON (97% de la MS total de la dieta) + inulina (3% de la MS total).

ALF: CON (95,5% de la MS total de la dieta) + alfalfa fresca (4,5% de la MS total).

CIT: CON (95,5% de la MS total de la dieta) + pulpa de citrus fresca (4,5% de la MS total).

Los niveles de inclusión de las fuentes de fibra se calcularon en base seca. El nivel de inulina se seleccionó considerando efectos positivos previamente reportados (Loh et al., 2006), y durante 7 días del período de acostumbramiento se utilizó para ajustar los niveles más altos de alfalfa y pulpa de citrus a ser incluidos en las dietas minimizando el rechazo por los lechones. De esta forma, las dietas no fueron formuladas para ser iso-nitrogenadas, sino para contener los mismos niveles de inclusión de alfalfa y citrus.

La alfalfa (*Medicago sativa*) se obtuvo de una parcela de monocultivo presente en el Campo Experimental y fue cortada a mitad de verano. La pulpa de citrus se obtuvo de una industria de procesamiento de jugos (Frigorífico Uruguayo S, A., Montevideo, Uruguay), utilizándose la pulpa y la piel remanentes luego del exprimido mecánico de la fruta, y recolectada inmediatamente después de la extracción del jugo.

En el Cuadro I se presentan los ingredientes y la composición química de las dietas experimentales. La dieta CON fue formulada siguiendo las recomendaciones nutricionales propuestas por FEDNA (2006). La alfalfa y la pulpa de citrus se utilizaron picadas (<5 mm) y frescas, y eran almacenadas a -20°C . Los aditivos se mezclaban con el alimento base y se mantenían refrigerados a 4°C hasta ser suministrados a los animales. En la Figura 1 se presenta un esquema del período experimental, que consistió en un período de adaptación de 12 días de los animales a las dietas, seguido de un período de recolección de muestras de 11 días. Los animales tuvieron libre acceso a las dietas y a agua fresca durante todo el experimento. El agua se suministró a través de bebederos automáticos instalados en cada jaula metabólica.

Cuadro I. Ingredientes y composición química de las dietas experimentales, alfalfa y pulpa de citrus frescas utilizadas.

	CON	INU	ALF	CIT	Alfalfa	P, citrus
<i>Ingrediente (%)</i>						
Maíz	52,1	50,6	49,8	49,8		
Harina de soja	40,1	38,9	38,3	38,3		
Oleína	2,5	2,4	2,4	2,4		
Fosfato dicálcico	1,5	1,5	1,4	1,4		
Carbonato de calcio	1,2	1,17	1,2	1,2		
Sal	2	1,94	1,92	1,92		
Núcleo vitamínico–mineral ⁽¹⁾	0,3	0,29	0,29	0,29		
L-Lisina	0,25	0,24	0,24	0,24		
DL-Metionina	0,1	0,1	0,1	0,1		
Inulina	-	3	-	-		
Alfalfa	-	-	4,5	-		
Pulpa de citrus	-	-	-	4,5		
<i>Composición química (% base seca)</i>						
Materia seca, MS	89,17	89,17	77,50	74,17	24,22	16,24
Cenizas	8,41	7,14	7,62	7,17	8,70	3,50
Materia orgánica, MO	91,59	92,86	92,38	92,83	91,30	96,5
Proteína bruta, PB	22,23	19,23	19,11	18,35	21,49	6,64
Fibra detergente neutra, FDN	12,53	13,59	15,66	14,51	29,63	15,99
Fibra detergente ácida, FAD	3,77	4,13	5,44	4,91	15,03	10,58
Hemicelulosas, Hemic	8,77	9,46	10,22	9,6	14,60	5,41
Extracto etéreo, EE	6,34	7,27	6,98	7,18	-	-
Energía metabolizable, kcal/kg ⁽²⁾	3,623	3,637	3,558	3,625	-	-
CRA ⁽³⁾ , g agua/g alimento seco	0,99	1,29	1,15	1,54	-	-

Composición por kg de producto: Vit, A, 3,000,000 IU; Vit, D3, 400,000 IU; Vit, E, 4 IU; Vit, B1, 400 mg; Vit, B2, 700 mg; ácido pantoténico, 3g; Vit, B6, 600 mg; Vit, B12, 6 mg; ácido nicotínico, 3 g; Vit, K3, 0,2 g; biotina, 20 mg; colina, 36,8 g; antioxidante, 24 g; Mg, 50 g; Cu, 3,7 g; Co, 0,15 g; Zn, 36,8 g; Mn, 3,7 g; Fe, 15 g; Se, 20 mg; I, 200 mg, ⁽²⁾ Calculado de acuerdo a Rostagno et al, (2005), ⁽³⁾ CRA: capacidad de retención de agua, por método de filtración según Kyriazakis y Emmans (1995),

Figura 1. Esquema del período experimental.

Actividad	Adaptación												Mediciones											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	
Pesaje	■											■											■	■
Consumo								■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■					
Heces y orina													■	■	■	■								
Consistencia y pH fecal														■	■									
Eutanasia																							■	■

7.1. Mediciones y cálculos.

7. 1.1. Consumo de alimento, ganancia diaria e índice de conversión.

El consumo de alimento se determinó individualmente por diferencia de peso entre el alimento ofrecido y rechazado.

Además, cada animal fue pesado semanalmente para determinar la ganancia de peso, La ganancia diaria de peso se calculó como:

$$\text{Ganancia de peso} = \frac{\text{Peso final} - \text{Peso inicial}}{\text{Días entre pesadas}}$$

El índice de conversión fue estimado como la relación entre la ganancia diaria y el alimento consumido diariamente. Representa la proporción de alimento que se convirtió en carne.

$$\text{Índice de Conversión} = \frac{\text{Aumento de peso (g/d)}}{\text{Alimento ingerido (g/d)}}$$

7.1.2. Digestibilidad aparente in vivo, balance de N, características fecales.

Luego del período de adaptación se recolectó y pesó la cantidad de heces cada 12 horas, y alícuotas de 10% se almacenaron a -20°C hasta su análisis. Además, sobre muestras de heces frescas se midió pH y consistencia fecal utilizando una escala descrita por Freitas y col. (2006) de 1 (heces firmes) a 4 (heces líquidas). La orina fue recolectada en recipientes conteniendo 25 mL de solución de HCl 6N para evitar fermentación y pérdida de compuestos nitrogenados. El volumen de orina de cada animal fue determinado diariamente y alícuotas de 10% de la orina diaria fue recogido y almacenado a -20°C hasta su análisis. Luego del período de recolección de muestras se conformó un pool de heces y orina por animal para su posterior análisis químico. En las muestras de heces se determinó materia seca (MS), materia orgánica (MO), proteína bruta (PB), fibra neutro detergente (FND), fibra ácido detergente (FAD) y extracto etéreo (EE). A partir de estos datos los coeficientes de digestibilidad para cada fracción del alimento se calcularon como:

$$\text{Digestibilidad} = \frac{\text{Nutriente ingerido (g)} - \text{Nutriente en heces}}{\text{Nutriente ingerido (g)}}$$

En las muestras de orina se determinó el contenido de N y N retenido se calculó como:

$$\text{N retenido} = \text{N ingerido (g)} - [(\text{N en heces (g)} + \text{N en orina (g)})]$$

7.2. Análisis estadístico.

Los datos de consumo, características de las heces, digestibilidad aparente y balance de N, fueron comparados entre tratamientos utilizando el procedimiento PROC MIXED de SAS® (SAS Institute, Cary, EEUU, 2000) a través del modelo:

$$Y_{ijk} = \mu + T_i + B_j + e_{ijk},$$

donde Y_{ijk} es el efecto fijo de i tratamiento (CON, INU, ALF, CIT), en cada k réplica animal ($k=6$ lechones), μ es la media general del parámetro, T_i es el efecto fijo del tratamiento ($n=4$), B_j es el efecto aleatorio del bloque ($n=6$) y e_{ijk} el error residual. Las comparaciones entre tratamientos se realizarán mediante contrastes ortogonales. De esta forma se realizarán los siguientes contrastes: C1: CON vs las dietas conteniendo los aditivos; C2: INU vs las dietas conteniendo alfalfa o pulpa de citrus; C3: ALF vs CP.

8. RESULTADOS

8.1. Parámetros productivos y digestibilidad aparente.

En el Cuadro II se presentan los parámetros productivos para los distintos tratamientos. No se observaron diferencias entre los tratamientos para el consumo diario de MS, las ganancias diarias de peso o la conversión alimenticia.

Cuadro II. Efecto de la inclusión de los aditivos en la dieta sobre parámetros productivos en lechones.

	Tratamiento ⁽¹⁾					Contraste ⁽³⁾ (P)		
	CON	INU	ALF	CIT	EEM ⁽²⁾	C1	C2	C3
Consumo, g MS/d	725,9	660,0	630,1	715,4	57,65	0,40	0,86	0,31
Consumo, g MS/kg PV	42,93	40,69	39,57	45,73	5,099	0,52	0,51	0,11
Ganancia diaria, g	438,7	360,3	404,7	385,0	76,03	0,47	0,69	0,84
Conversión alimenticia, g/g ⁽⁴⁾	0,606	0,543	0,645	0,534	0,080	0,52	0,46	0,18

⁽¹⁾Tratamiento: CON = dieta control basada en maíz y harina de soja; INU = CON + 3% inulina; ALF = CON + 4,5% alfalfa fresca; CIT = CON + 4,5% pulpa de citrus fresca, ⁽²⁾Error estándar de las medias (n = 6), ⁽³⁾Contrastes: C1 = CON vs, inclusión de fibra; C2 = INU vs, (ALF + CIT); C3 = ALF vs, CIT, ⁽⁴⁾Conversión alimenticia calculada como g de aumento de PV /g de alimento ingerido.

La digestibilidad aparente de los nutrientes se presenta en el Cuadro III. La digestibilidad de la PB fue la única fracción del alimento afectada por los tratamientos. La inclusión de los aditivos en las dietas produjo una disminución en la digestibilidad de la PB del 6,4%, sin que se observaran diferencias entre las distintas fuentes de fibra.

Cuadro III. Efecto de la inclusión de los aditivos en la dieta sobre la digestibilidad aparente de los nutrientes en lechones.

	Tratamiento ⁽¹⁾					Contraste ⁽³⁾ (P)		
	CON	INU	ALF	CIT	EEM ⁽²⁾	C1	C2	C3
Digestibilidad aparente								
MS, %	85,07	83,61	83,15	83,77	1,56	0,38	0,93	0,77
MO, %	86,03	84,60	84,19	84,68	1,52	0,37	0,92	0,82
PB, %	85,51	80,74	79,36	80,01	2,04	0,02	0,66	0,81
FDN, %	69,75	66,57	71,32	69,55	3,63	0,89	0,40	0,73
FDA, %	62,59	57,98	65,77	64,8	4,69	0,96	0,22	0,89
Hemic,, %	72,83	70,32	74,27	71,98	3,34	0,87	0,50	0,63
EE, %	61,47	66,92	58,02	65,92	3,61	0,57	0,23	0,10

⁽¹⁾Tratamiento: CON = dieta control basada en maíz y harina de soja; INU = CON + 3% inulina; ALF = CON + 4,5% alfalfa fresca; CIT = CON + 4,5% pulpa de citrus fresca, ⁽²⁾Error estándar de las medias (n = 6), ⁽³⁾Contrastes: C1 = CON vs, inclusión de fibra; C2 = INU vs, (ALF + CIT); C3 = ALF vs, CIT, ⁽⁴⁾ Digestibilidad aparente: MS = materia seca; MO = materia orgánica; PB = proteína bruta; FDN = fibra detergente neutra; FDA: fibra detergente ácida; Hemic,, = hemicelulosas,

8.2. Parámetros fecales.

Las características de las heces (g excretados, consistencia y pH), así como el pH son presentados en el Cuadro IV. La excreción diaria de heces frescas tendió a ser mayor en los tratamientos que incluyeron aditivos ($P=0,09$) sin que se observaran diferencias entre los distintos tipos de aditivos utilizados. El contenido de MS de las heces se redujo con la inclusión de aditivos en la dieta ($P=0,03$); dentro de los tipos de aditivos, los animales suplementados con inulina excretaron heces con un contenido de MS que tendió a ser mayor que para los animales que recibieron dietas conteniendo alfalfa o pulpa de citrus ($P=0,06$). Además, las heces de los lechones alimentados con la dieta control tuvieron una consistencia más firme que la de los alimentados con dietas suplementadas con aditivos ($P=0,04$). Los valores de pH en las heces no fueron afectados por los tratamientos.

Cuadro IV. Efecto de la inclusión de los aditivos en la dieta sobre las características fecales y de la digesta en lechones.

	Tratamiento ⁽¹⁾					Contraste ⁽³⁾ (P)		
	CON	INU	ALF	CIT	EEM ⁽²⁾	C1	C2	C3
Excreción fecal, g/d	331,6	364,6	442,7	464,1	57,41	0,09	0,12	0,73
MS en heces, %	31,3	29,3	24,5	24,4	2,56	0,03	0,06	0,98
Consistencia ⁽⁴⁾	1,57	1,97	2,21	2,11	0,33	0,04	0,46	0,73
pH fecal	6,03	6,03	6,38	6,17	0,13	0,31	0,13	0,28

⁽¹⁾Tratamiento: CON = dieta control basada en maíz y harina de soja; INU = CON + 3% inulina; ALF = CON + 4,5% alfalfa fresca; CIT = CON + 4,5% pulpa de citrus fresca, ⁽²⁾Error estándar de las medias ($n = 6$), ⁽³⁾Contrastes: C1 = CON vs, inclusión de fibra; C2 = INU vs, (ALF + CIT); C3 = ALF vs, CIT, ⁽⁴⁾Consistencia fecal: 1 (heces firmes) a 4 (heces líquidas),

8.3. Balance de nitrógeno.

Los efectos de la inclusión de los aditivos sobre el balance del N se presentan en el Cuadro V. Los animales alimentados con dietas que contenían aditivos presentaron un consumo de N menor que los que consumieron la dieta control (P=0,03). Sin embargo, la inclusión de aditivos no modificó la excreción fecal diaria de N. La eliminación urinaria diaria de N fue mayor en el grupo que recibió la dieta suplementada con alfalfa (P=0,02), mientras que el grupo que recibió la dieta conteniendo inulina fue el que tendió a eliminar diariamente menos N por orina (P=0,09). El N retenido por día fue mayor en el grupo control que en los grupos de lechones que recibieron dietas suplementadas con aditivos (P=0,01). La inclusión de aditivos deprimió la utilización de N (P=0,02). En este parámetro las diferentes fuentes de aditivos provocaron efectos diferentes, ya que la alfalfa fue el tratamiento que presentó menor utilización de N (P=0,03) e INU tendió a utilizar mejor el N que los restantes tratamientos que contenían aditivos (P=0,09).

Cuadro V. Efecto de la inclusión de los aditivos sobre la ingestión, excreción y retención de N en lechones.

	Tratamiento ⁽¹⁾					EEM ⁽²⁾	Contraste ⁽³⁾ (P)		
	CON	INU	ALF	CIT	C1		C2	C3	
N ingerido, g/d	24,1	19,8	18,6	19,5	1,85	0,03	0,76	0,74	
Excreción fecal de N, g/d	3,51	3,74	3,76	3,73	0,38	0,53	0,99	0,96	
Excreción urinaria de N, g/d	1,95	1,79	3,96	1,98	0,55	0,33	0,09	0,02	
N retenido, g/d	18,7	14,2	10,9	13,8	1,70	0,01	0,37	0,24	
N utilizado, % ⁽⁴⁾	77,1	71,6	57,0	69,8	4,00	0,02	0,09	0,03	

⁽¹⁾Tratamiento: CON = dieta control basada en maíz y harina de soja; INU = CON + 3% inulina; ALF = CON + 4,5% alfalfa fresca; CIT = CON + 4,5% pulpa de citrus fresca, ⁽²⁾Error estándar de las medias (n = 6/), ⁽³⁾Contrastes: C1 = CON vs, inclusión de fibra; C2 = INU vs, (ALF + CIT); C3 = ALF vs, CIT, ⁽⁴⁾g de N retenido/ g de N ingerido,

9. DISCUSIÓN

El consumo diario de MS por animal para todos los tratamientos se encontró dentro de los niveles esperados para la categoría según lo indicado por NRC (1998). A pesar de que la inclusión de fibra en las dietas de cerdos puede llevar a modificaciones en el consumo de alimentos, no se registraron modificaciones en ninguna de las variables relacionadas con el rendimiento productivo (consumo de MS, ganancia diaria de PV o conversión alimenticia). Se ha reportado que un aumento en los niveles de fibra de las dietas está asociado a una reducción en el contenido de EM del alimento (Noblet y col., 2001) y esta reducción puede ser un estímulo para aumentar el consumo de la dieta manteniendo de esta forma el consumo de energía (Lee y col., 2002). Por otra parte, el efecto de repleción de la fibra dietética puede llevar a saciedad (Kyriazakis & Emmans, 1995) o a disminuir la palatabilidad de la dieta (Braude, 1967). No obstante, según los datos reportados en algunas publicaciones la inclusión en la dieta de cerdos de 7,5% de pulpa de citrus (Weber y col., 2008), 4% de pulpa de remolacha (Bikker y col., 2006) o 3% de inulina (Loh y col., 2006) no afectan el consumo o la eficiencia de crecimiento. Por otra parte, Fonseca y col., 2012 al evaluar los efectos de distintas fuentes de fibra (celulosa purificada 1,5%, cáscara de soja 3 %, pulpa de citrus 9%) comparando con una dieta control, no observaron diferencias significativas en el consumo y rendimiento, entre los tratamientos. Posiblemente los niveles de fibra utilizados en el presente experimento (3% de inulina, 4,5% de alfalfa y pulpa de citrus; FND: desde 12,5 a 15,7%) no fueron suficientemente altos como para modificar de manera sustancial el contenido de fibra y energía de las dietas, y por tanto influir sobre el consumo de alimentos y la eficiencia de crecimiento. Wang y col., (2018), reportaron que la inclusión en la dieta de harina de alfalfa con niveles de 5%, 10% y 15%, no afectó la ganancia diaria, entre los tratamientos, y también reportaron que niveles de harina de alfalfa de 15 %, tendió a disminuir el consumo de alimento.

A pesar de que las fracciones de menor digestión (NDF, ADF y hemicelulosas) fueron mayores en las dietas suplementadas en comparación con la dieta control (por ej., un nivel de FDN 8,5%, 25% y 15% mayor en INU, ALF y CIT, respectivamente) la digestibilidad aparente de la MS, MO, fracciones de fibra y EE de las dietas experimentales no fueron afectadas por la inclusión de aditivos. No obstante, según otros autores la digestibilidad aparente de los nutrientes en las dietas de cerdos disminuye cuando aumentan los niveles de fibra (Le Goff y col., 2003), debido a la adición de ingredientes de baja digestibilidad, lo que diluye la cantidad de nutrientes disponibles para la digestión hidrolítica (Smiricky-Tjardes y col., 2003). Es interesante destacar que la digestibilidad de las diferentes fracciones fibrosas en nuestro trabajo (en promedio 69%, 63% y 72% para la FDN, FDA y hemicelulosas, respectivamente) fue más elevada que valores de digestibilidad reportados por Noblet y col. (2001) que señalan que la digestibilidad de la fibra de la dieta varía entre 40 y 60%. Seguramente, la alta digestibilidad de las fracciones fibrosas de las dietas, sumado a que los niveles de fibra utilizados no fueron demasiado elevados [FEDNA (2006) indica un máximo de 13% de FND para lechones de entre 12 y 22 kg de PV, pueden explicar que la digestibilidad de los nutrientes no fue afectada con la inclusión de fibra. Además, el hecho de que la

digestibilidad de la mayoría de los nutrientes no fuera modificada por los aditivos explica y se relaciona con los resultados obtenidos en consumo y eficiencia de crecimiento.

En este trabajo únicamente se observaron cambios en la digestibilidad de la PB, que fue menor en los tratamientos suplementados con aditivos. Esta depresión en la digestibilidad de la proteína pudo deberse a una disminución en el tiempo de tránsito de la digesta a través del TGI ya observada por otros en dietas suplementadas con fibra (Bindelle y col., 2008), lo que limita el tiempo de contacto entre nutrientes y enzimas, y productos de digestión con superficies de absorción (De Haer y De Vries, 1993). Además, la disminución en la digestibilidad de las proteínas pudo deberse a un aumento en la excreción de nitrógeno unido a la fracción fibrosa de la digesta, a una mayor pérdida de nutrientes endógenos asociados a un aumento en la masa microbiana excretada en las heces (Andersson y Lindberg, 1997). Así como a un aumento en las secreciones digestivas que se producen cuando los niveles de fibra en la dieta aumentan (Wenk, 2007).

Con respecto al balance de N, dado que el contenido de N fue mayor en la dieta control y que consumo de alimentos fue similar entre tratamientos, el consumo de N fue mayor en los animales que recibieron el tratamiento CON. No obstante, la excreción de N fue similar entre tratamientos debido a que el menor consumo de N en los grupos suplementados con fibra fue compensado por la reducción en la digestibilidad de la PB ($N \times 6,25$), resultando en una excreción fecal similar, como fue reportado por Zervas y Siljstra (2002). Los animales que recibieron las dietas suplementadas con fibra retuvieron menos N y lo utilizaron menos eficientemente. Dentro de los tratamientos suplementados con aditivos, el tratamiento que incluyó alfalfa fue el que presentó menores valores de utilización de N y mayor excreción urinaria de N. Se ha reportado que la inclusión de carbohidratos fermentables en las dietas produce una modificación en la excreción de N, aumentando en heces y disminuyendo en orina (Patrás y col., 2012). Esto es debido a que el N es retenido en el intestino grueso, lo que estaría asociado a los procesos de síntesis de proteína bacteriana. Como consecuencia de lo anterior, disminuye el N que se absorbe a través de la pared del intestino, que pasa a la sangre y que finalmente es excretado por orina (Bindelle y col., 2008). Este efecto, al comparar los aditivos entre sí, fue parcialmente notado con la inclusión de inulina, que tendió a producir una leve reducción en el N emitido a través de la orina al ser comparado con los otros dos aditivos.

La excreción fecal en los grupos suplementados con los aditivos tendió a ser mayor que los que recibieron la dieta control. Además, la inclusión de los aditivos en las dietas produjo heces con mayor contenido en humedad y de consistencia más blanda. El consumo de fibra influye en diversos procesos metabólicos, disminuyendo la absorción de nutrientes y aumentando la producción de heces (Bauer y col., 2006). Cummings y col, (1992) observaron que alimentos ricos en celulosa, como la alfalfa, provocan un efecto de repleción en el colon, una disminución en el tiempo de tránsito fecal y un aumento en el volumen de las heces. Sin embargo, en nuestro trabajo la inclusión de alfalfa o pulpa de citrus en las dietas no modificó de manera significativa la cantidad de heces excretadas como era esperable, seguramente debido a que ni el consumo de las

dietas, ni la digestibilidad de la MS o MO de las dietas fueron diferentes entre tratamientos.

De acuerdo a las características de las heces, la inclusión de fibra en las dietas produjo heces con mayor contenido en humedad y de consistencia más blanda. De acuerdo con la composición de las dietas experimentales aquí utilizadas, las fuentes de fibras, sobre todo las rápidamente fermentables como inulina o pulpa de citrus, contribuyen a aumentar la capacidad de retención de agua de la digesta y de la materia fecal, lo que disminuye el contenido de MS de las heces (Fahey y col., 1992), llevando a que se excreten heces más blandas (Twomey y col., 2003). Además, existe un efecto osmótico de los productos de fermentación (AGV, lactato) y de los carbohidratos que no son fermentados en intestino, lo que se relaciona con una menor consistencia fecal (Twomey y col., 2003). En nuestro trabajo no detectamos diferencias entre grupos en el pH fecal medido en heces, por lo que seguramente la presencia de fibra en los grupos suplementados fue el factor más relacionado con la disminución en la consistencia fecal detectada.

Como fue mencionado anteriormente, el pH de las heces no fue diferente entre tratamientos. La inclusión de fibra fermentable en la dieta lleva a la acumulación de ácidos orgánicos (ácido láctico y AGV) como productos finales de la fermentación microbiana, lo que provocaría la disminución en el pH luminal y fecal (Twomey y col., 2003). El pH en heces no fue diferente entre tratamientos seguramente porque los ácidos orgánicos que se producen en el colon fueron completamente absorbidos en este tramo del intestino, lo que condujo a valores de pH incambiados en las heces, del mismo modo que fue observado por Houdijk y col. (1998).

10. CONCLUSIONES

La inclusión alfalfa y pulpa de citrus en niveles del 4,5% en dietas para lechones no deprimió el consumo, la eficiencia productiva ni provocó aumentos en la excreción de heces.

Por otra parte, los efectos benéficos de la utilización de fibra sobre la eliminación de N no pudieron ser observados, ya que la inclusión de los aditivos afectó negativamente el metabolismo del N, deprimiendo la digestibilidad y la utilización global del N.

En base a los resultados obtenidos, no se considera que la inclusión de alfalfa o pulpa de citrus genere efectos claramente benéficos en lechones en etapa de post-destete.

11. BIBLIOGRAFÍA

1. Ammerman, C.B., Henry, P.R., (1991), Citrus and vegetable products for ruminant animals, Proceedings of the Alternative Feeds for Dairy and Beef Cattle Symposium, St. Louis, , USA, p, 103–110.
2. Andersson C., Lindberg J, E, (1997), Forages in diets for growing pigs 1, Nutrient apparent digestibilities and partition of nutrient digestion in barley-based diets including lucerne and white-clover meal, Anim, Sci,; 65: 483-491.
3. Bampidis B, A., Robinson P, H, (2006). Citrus by-products as ruminant feeds, A review, Anim, Feed Sci, Technol; 128: 175-217.
4. Bauer E., Williams B. A., Verstegen M. W. A., Mosenthin R, (2006), Fermentable carbohydrates: potential dietary modulators of intestinal physiology, microbiology and immunity in pigs, En: Mosenthin R., Zentek J, Zebrowska T, (Ed.), Biology of Nutrition in Growing Animals, Edinburgh, Elsevier, p, 33-63.
5. Bindelle J., Buldgen A., Leterme P. (2008). Nutritional and environmental consequences of dietary fiber in pig nutrition: a review, Biotechnol Agron Soc Environ 12(1):69-80.
6. Bikker P. A., Dirkzwager J., Fledderus P., Trevisi I., le Huërou-Luron J. P., Lallès J. P., Awati A. (2006). The effect of dietary protein and fermentable carbohydrates levels on growth performance and intestinal characteristics in newly weaned piglets, J Anim Sci 84:3337-3345.
7. Brambillasca S., Fraga M., Deluca C., Britos A., Cajarville C. (2007). Uso de pulpa de citrus y pomaza de manzana como prebióticos en perros I: efecto sobre poblaciones bacterianas y pH fecales, V Jornadas Técnicas de Facultad de Veterinaria, UdelaR, 21 - 23 de noviembre de 2007, pág, 50, Montevideo.
8. Braude R. (1967). The effect of changes in feeding patterns on the performance of pigs, Proc Nutr Soc 26: 163-491.
9. Cajarville C., Aguerre M., Repetto J. L. (2006). Rumen pH, NH₃-N concentrations and forage degradation Kinetics of cows grazing temperate pasture and supplemented with different sources of grain, Anim, Res, 55: 511-520.
10. Callaway T. R., Anderson R. C., Edrington T. S., Elder R. O., Genovese K. J., Bischoff K. M., Poole T. L., Jung Y. S., Harvey R. B., Nisbet D. J. (2003). Preslaughter intervention strategies to reduce food-borne pathogens in food animals J. Anim. Sci. 81(E. Suppl. 2):E17–E23.
11. Canibe N., Bach Knudsen K. E. (2001). Degradation and physicochemical changes of barley and pea fiber along the gastrointestinal tract of pigs, J Sci Food Agric 82:27-39.

12. Castro M y Rodríguez F. (2005). Levaduras: probióticos y prebióticos que mejoran la producción animal, *Corpoica*, 6 (1):26-38.
13. Collins M. D., Gibson G. R. (1999). Probiotics, prebiotics, and symbiotic: approaches for modulating the microbial ecology of the gut, *Am J Clin Nutr*; 69 (suppl):1052S–1057S.
14. Cone J. W., Jongbloed A. W., Van Gelder A. H., de Lange L. (2005). Estimulation of protein fermentation in the large intestine of pigs using a gas production technique, *Anim. Feed Sci. Technol.* 123 (124): 463-472.
15. Contrera B. J., da Silva C. A., Bridi A. M., Pacheco G. D. (2009). Avaliação de prebióticos como promotor de crescimento para suínos nas fases de recria e terminação, *Semina*, 30 (2): 471-480.
16. Corthésy B., Gaskins R., Mercenier A. (2007). Cross-talk between probiotic bacteria and the host Immune system. *J. Nutr.* 137:781S–790.
17. Cummings J. H., Bingham S. A., Heaton K. W., Eastwood E. A. (1992). Fecal weight, colon cancer risk, and dietary-intake of nonstarch polysaccharides (dietary fiber), *Gastroenterology* 103:1783-1789.
18. Davila M. A., Sangronis E., Granito M. (2003). Leguminosas germinadas o fermentadas: alimentos o ingredientes de alimentos funcionales, *Arch. Latinoamericano de nutrición*, 53 (4): 348-353.
19. De Haer L. C. M., De Vries A.G. (1993). Feed intake patterns and feed digestibility in growing pigs housed individually or in groups, *Livest Prod Sci* 33:277-292.
20. DIEA, (2019). Anuario estadístico agropecuario 2019, Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca, Dirección de Estadísticas Agropecuarias. Disponible en: <https://descargas.mgap.gub.uy/DIEA/Anuarios/Anuario2019/Anuario2019.pdf>
Fecha de consulta: 30-10-2019.
21. Easter R. A., Tanksley J. (1973). A technique for reentrant ileocecal cannulation of swine, *J. of Anim. Sci.* 36 (6): 1099-1103.
22. Errea E., Ruiz M. I., Souto G., Capra G. (2013). Cadena Porcina- Análisis de competitividad y temas tecnológicos prioritarios. Disponible en: <http://www.ainfo.inia.uy/digital/bitstream/item/1113/1/18429210513115105.pdf>
(Fecha de consulta: 30-10-2019).
23. Fahey Jr. G. C., Mewhen N. R., Corbin J. E., Hamilton A. K., Bauer L. L. , Titgemeyer E. C., Hiraikawa D. A. (1992). Dietary fiber for dogs: III. Effects of beet pulp oat fiber additions to dog diets on nutrient intake, digestibility, metabolizable energy, and digesta mean retention time, *J Anim Sci* 70:1169-1174.

24. Figueroa V. J. L., Chi Mreno E. E., Cervantes R. M., Domínguez V. J. A. (2006). Alimentos funcionales para cerdos al destete. *Vet. Méx.* 37 (1): 117-136.
25. Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal, FEDNA, (2006). Necesidades nutricionales para ganado porcino. Normas FEDNA, Madrid, FEDNA, 60 p.
26. Fonseca P. L. A., Thomaz M. C., Watanabe P. H., Dos Santos R. U., Bertocco E. J. M., Borges A. A., Daniel E., Iselda G. C. (2012). Fiber sources in diets for newly weaned piglets. *Rev. Bras. Zootec.* 41 (3):636-642.
27. Freitas L. S., Lopes D. C., Freitas A. F., Carneiro J., Corassa A., Pena S., Costa L. (2006). Avaliação de ácidos orgânicos em dietas para leitões de 21 a 49 días de idade. *Rev. Bras. Zootec.* 35(4):1711-1719.
28. García S, A., Palomo G. G. (2014). Alternativas a los antibióticos en producción de porcinos (II). *Suis.* 110: 20-24.
29. Grela E. R., Sobolewska S., Kowalezuk-Vasilev E., Krasucki W. (2014). Effect of dietary inulin source on piglet performance, immunoglobulin concentration, and plasma lipid profile. *Bull. Vet. Inst. Pulawy.* 58: 453-458.
30. Haese D., Nunes Silva B. A. (2004). Antibióticos como promotores de crescimento em monogástricos. *Rev. Eletrôn. Nutritime.* 1(1):7-19.
31. Houdijk J. G. M., Bosch M. W., Verstegen M. W. A., Berenpas H. J. (1998). Effects of dietary oligosaccharides on the growth performance and faecal characteristics of young growing pigs, *Anim Feed Sci Technol* 71:35-48.
32. Isolauri E., Sütas Y., Kankaanpää P., Arvilommi H., Salminen S. (2001). Probiotics: effects on immunity. *Am. J. Clin. Nutr.* 73(suppl):444S–450S.
33. Jarret G., Martinez J., Dourmand J. Y. (2010). Effect of biofuel co-products in pig diets on the excretory patterns of N and C and on the subsequent ammonia and methane emissions from pig effluent, *Animal.* 5 (4): 622–63.
34. Junqueira O. M. Garibaldi L. C. Barbosa S. Pereira A. A., Araújo L. F., Garcia N. M., Franke P.M., (2009). Uso de aditivos em rações para suínos nas fases de creche, crescimento e terminação, *Rev. Bras. Zootec.* 38: (12):2394-2400.
35. Kale P.N., Adsule P.G., (1995). Citrus. En: Salunkhe D.K., Kadam. S.S. (Eds.). *Handbook of Fruit Science and Technology: Production, Composition, Storage, and Processing*, New York. Dekker, p. 39–65.

36. Krehbiel C. R., Rust S. R., Zhang G., Gilliland S. E. (2003). Bacterial direct-fed microbials in ruminant diets: performance response and mode of action. *J. Anim. Sci.* 81(E. Suppl. 2):E120– E132.
37. Kyriazakis I.; Emmans G. C. (1995). The voluntary feed intake of pigs given feeds based on wheat bran, dried citrus pulp and grass meal, in relation to measurements of feed bulk. *Br. J. Nutr.* 73:191-207.
38. Laplace J. P. (1986). Amino acid availability in pig feeding. *World Congress Of Animal Feeding.*, Madrid. 4 (9): 109-128.
39. Lee C. Y., Lee H. P., Jeong J. H., Baik K. H., Jin. S. K., Lee J. H., Sohn S. H. (2002). Effects of restricted feeding, low-energy diet, and implantation of trenbolone acetate plus estradiol on growth, carcass traits, and circulating concentrations of insulin-like growth factor (IGF)-I and IGF-binding protein-3 in finishing barrows, *J Anim Sci* 80: 84-93.
40. Le Goff G., Noblet J., Cherbut C. (2003). Intrinsic ability of the faecal microbial flora to ferment dietary fibre at different growth stages of pigs, *Liv. Prod. Sci.* 81:7587.
41. Lindbeg J. E. (2014). Fiber effects in nutrition and gut health in pigs. *J. Anim. Sci. Biotechnol.* 5:15.
42. Loh G., Eberhard M., Brunner R, M., Hennig U., Kuhla S., Kleessen B., Metges C. C, (2006). Inulin alters the intestinal microbiota and short-chain fatty acid concentrations in growing pigs regardless of their basal diet, *J. Nutr.* 136:1198-1202.
43. Londoño J.; Sierra J.; Álvarez R.; Restrepo A. M.; Pássaro C. P. (2012). Aprovechamiento de los sub-productos cítricos. En: Garcés L., Pássaro C. (eds). *Cítricos: cultivo, cosecha e industrialización*, Itagüí. Corporación Universitaria Lasallista, Artes y Letras, p. 344-367.
44. McDonald P., Edwards R. A., Greenhalgh J. F., Morgan C. A. (2006). *Nutrición animal*, 6ª ed. Zaragoza, Acribia. 587 p.
45. Metzler-Zebeli B. U., Trevis P., Prates J. A. M., Tanghe S., Bosi P., Canibe N., Montagne L., Freire J., Zebeli Q. (2017). Assessing the effect of dietary inulin supplementation on gastrointestinal fermentation, digestibility and growth in pigs: A meta-analysis, *Anim. Feed Sci. Technol.* 233: 120–132.
46. National Research Council, (1998). *Nutrient Requirements of Swine*, 10ª ed. Washington, National Academic, 210 p.
47. Noblet J., Le Goff G. (2001). Effect of dietary fibre on the energy value of feeds for pigs, *Anim Feed Sci Technol* 90:35-52.

48. Olagnero G., Abad A., Bendersky S., Genovois C., Granzella L., Montonati M., (2007). Alimento funcional- fibra, prebióticos, probióticos y simbióticos, DIAETA (B, Aires), 25 (121): 20-33.
49. Owusu-Asiedu A., Patience J. F., Laarveld B., Van Kessel A. G., Simmins P. H., Zijlstra R. T., (2006). Effects of guar gum and cellulose on digesta passage rate, ileal microbial populations, energy and protein digestibility, and performance of grower pigs, J Anim Sci 84:843-852.
50. Patrás P., Nitroyova S., Brestensky M., Heger J. (2012). Effect of dietary fiber and crude protein content in feed on nitrogen retention in pigs, J. Anim. Sci.90:158–160.
51. Repetto J. L., Britos A., Errandonea N., Cozzolino D., Cajarville C. (2006). Effect of harvest schedule and plant part on in vitro gas production of temperate forages, J. Dairy Sci. 89 (1): 102.
52. Roberfroid M.B., (2005). Introducing inulin-type fructans, Br. J. Nutr. 93: S13–25.
53. Roberfroid M., (2007). Prebiotics: the concept revisited, J. Nutr. 137: 830S–837S.
54. Rodríguez-Palenzuela P., Garcia J., De Blas C. (1998). Fibra soluble y su implicancia en nutrición animal: enzimas y probióticos. XIV Curso de Especialización FEDNA. Disponible en: http://www.fundacionfedna.org/publicaciones_1998 Fecha de consulta: 04/12/2019.
55. Savón L. (2006). Alimentos altos en fibra para especies monogástricas, Caracterización de la matriz fibrosa y sus efectos en la fisiología digestiva, Rev. Cubana Cien Agríc. 36(2):91-102.
56. Serena A., Jørgensen H., Bach Knudsen K. E. (2009). Absorption of carbohydrate-derived nutrients in sows as influenced by types and contents of dietary fiber J Anim Sci 87:136-147.
57. Smiricky-Tjardes M. R., Grieshop C. M., Flickinger E. A., Bauer L. L., Fahey Jr. G. C. (2003). Dietary galactooligosaccharides affect ileal and total-tract nutrient digestibility, ileal and fecal bacterial concentrations, and ileal fermentative characteristics of growing pigs, J Anim Sci 81:2535-2545.
58. Twomey L.N., Pluske J.R., Rowe J.B. Choet M., Brown W., McConnell M.F., Pethick D.W, (2003). The effects of increasing levels of soluble non-starch polysaccharides and inclusion of feed enzymes in dog diets on faecal quality and digestibility, Anim Feed Sci Technol 108:71-82.
59. Uruguay, MGAP (2015). Resolución N° 222/2015 de DGSG de 23 de noviembre de 2015. Disponible en: <http://www.mgap.gub.uy/unidad-organizativa/direccion->

[general-de-servicios-ganaderos/normativa/01-08-2017/resolucion-no-222-de](#),
Fecha de consulta: 05/02/2020.

60. Van Soest P. E, (1994). Nutritional ecology of the ruminant, 2^a. Ed. Lthaca. Cornell University, 476 p.
61. Wang N., Qin Ch., He T., Qiu K., Sun W., Zhang X., Jiao N., Zhu W., Yin J. (2018). Alfalfa-containing diets alter luminal microbiota structure and short chain fatty acid sensing in the caecal mucosa of pigs, *J, Anim, Sci, Biotechnol*, 9: 11.
62. Weber T. E., Ziemer C. J., Kerr B. J, (2008). Effects of adding fibrous feedstuffs to the diet of young pigs on growth performance, intestinal cytokines, and circulating acute phase proteins, *J Anim Sci* 86:871-881.
63. Wenk C, (2007). Secondary effects of dietary fibre in the nutrition of monogastric animals, *BOKU-Symposium Tierernährung, Viena. Austria.* p, 10-24.
64. Witte W, (1999). Uso de antibióticos en la producción animal y desarrollo de la resistencia en las infecciones humanas, *Enf. Infec. Microbiol.* 19 (2): 83-86.
65. Zervas S., Zijlstra R. T, (2002). Effects of dietary protein and fermentable fiber on nitrogen excretion patterns and plasma urea in grower pigs, *J Anim Sci* 80: 3247-3256.