

Uso de tierra de diatomeas sobre el tiempo de tránsito intestinal, digestibilidad aparente, morfometría ósea y humedad de cama de pollos de engorde

Use of diatomaceous earth on intestinal transit time, apparent digestibility, bone morphometry and litter moisture of broilers

Fátima Verástegui C.¹, Connie Gallardo V.^{1*}, Claudia Espinoza R.¹

RESUMEN

El estudio tuvo como propósito evaluar los efectos de la suplementación de tierra de diatomeas (TD) en la dieta de pollos de engorde sobre el tiempo de tránsito intestinal, digestibilidad aparente, morfometría ósea y humedad de la cama. Se llevaron a cabo dos ensayos experimentales con 220 pollos machos y 220 pollos hembras, respectivamente, y con dos tratamientos por ensayo: tratamiento control (sin TD) y tratamiento con TD. Cada tratamiento contaba con 5 repeticiones y 22 pollos por repetición. Las variables fueron evaluadas a los 21 y 42 días de edad. El tiempo de tránsito intestinal aumentó ($p < 0.05$) con la adición de TD en ambas etapas y sexos, con una diferencia de 14.5 y 10.6 minutos en hembras y en 34.5 y 22.2 minutos en machos, respectivamente. La digestibilidad aparente de proteínas incrementó ($p < 0.05$) con la suplementación de TD a los 21 y 42 días, y la digestibilidad de cenizas y calcio incrementó a los 42 días. La humedad de cama se vio disminuida ($p < 0.05$) en los tratamientos con TD. Los resultados expuestos indican que la adición de TD puede incrementar el tiempo de tránsito intestinal, mejorar la digestibilidad de proteínas, cenizas y calcio, y disminuir la humedad de cama.

Palabras clave: tierra de diatomeas, pollos, tránsito intestinal, digestibilidad, mineralización, humedad de cama

¹ Carrera de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Científica del Sur, Lima, Perú

* E-mail: cgallardov@cientifica.edu.pe

Recibido: 2 de febrero de 2023

Aceptado para publicación: 8 de octubre de 2023

Publicado: 18 de diciembre de 2023

©Los autores. Este artículo es publicado por la Rev Inv Vet Perú de la Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Este es un artículo de acceso abierto, distribuido bajo los términos de la licencia Creative Commons Atribución 4.0 Internacional (CC BY 4.0) [<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/deed.es>] que permite el uso, distribución y reproducción en cualquier medio, siempre que la obra original sea debidamente citada de su fuente original

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the effects of diatomaceous earth (DT) supplementation in the diet of broiler chickens on intestinal transit time, apparent digestibility, bone morphometry and litter moisture. Two experimental trials were carried out with 220 male chickens and 220 female chickens, respectively, and with two treatments per trial: control treatment (without DT) and treatment with TD. Each treatment had 5 replicates and 22 chickens per replicate. The variables were evaluated at 21 and 42 days of age. Intestinal transit time increased ($p < 0.05$) with the addition of DT in both stages and sexes, with a difference of 14.5 and 10.6 minutes in females and 34.5 and 22.2 minutes in males, respectively. Apparent protein digestibility increased ($p < 0.05$) with DT supplementation at 21 and 42 days, and ash and calcium digestibility increased at 42 days. Litter moisture was decreased ($p < 0.05$) in treatments with DT. The results indicate that the addition of DT can increase intestinal transit time, improve the digestibility of proteins, ash and calcium, and decrease litter moisture.

Key words: diatomaceous earth, broiler chickens, intestinal transit time, digestibility, mineralization, litter moisture

INTRODUCCIÓN

La producción avícola de pollos de engorde en el Perú destaca por su constante crecimiento, por lo que se busca tener una mayor producción en un corto periodo de tiempo. Para ello, se debe tener en cuenta la digestión y absorción de nutrientes, los cuales pueden afectarse por factores tales como el tiempo de tránsito intestinal, la digestibilidad de los nutrientes y el mantenimiento del pH intestinal (Rougiere y Carré, 2010; Ravindran, 2013). Un óptimo tiempo de la ingesta en el tracto gastrointestinal equilibra la maximización del consumo de alimentos con la digestión, absorción y fermentación (Scanes y Pierzchala-Koziec, 2014).

Por este motivo se evalúan alternativas nutricionales que permitan el mayor aprovechamiento de los nutrientes de las dietas. Dentro de estas alternativas se cuenta con aditivos como prebióticos, probióticos, ácidos orgánicos, suplementos vitamínicos y minerales (Hameed, 2021). Sin embargo, muchos de estos productos demandan un costo alto para maximizar la producción, en especial, los aditivos minerales.

Las diatomeas son algas unicelulares que se caracterizan por poseer una pared de silicio (Serôdio y Lavaud, 2020). La tierra de diatomeas (TD) es el polvo de organismos acuáticos unicelulares, de allí que Köster (2010) la describe como una roca sedimentaria rica en silicio de origen natural formada por restos fosilizados de millones de diatomeas. Se describen diversos usos de la tierra de diatomeas en la industria pecuaria, siendo el más común el uso como antiparasitario (McLellan *et al.*, 2005; Maurer y Perler, 2006; Wiewiora *et al.*, 2015; Isabirye *et al.*, 2019). También es utilizado para la mineralización y nutrición (Tran *et al.*, 2015; Liu y Fowler, 2016; Nkwana *et al.*, 2019; Isabirye *et al.*, 2021), siendo el último punto el menos investigado.

Se dispone de limitados estudios de la TD sobre parámetros productivos de aves y menos aún sobre su efecto nutricional y en el sistema digestivo. Ferreira *et al.* (2005) describieron su efecto ralentizador del tránsito intestinal, lo cual aumentaría el tiempo de absorción y de esa manera el mayor aprovechamiento del alimento. Asimismo, Ikusika *et al.* (2019) encontraron una mayor digestibili-

dad de proteína cruda, extracto etéreo y fibra cruda en ovinos alimentados con TD a diferencia del grupo control. A pesar de ello, existen vacíos de información del efecto de las TD en la nutrición de aves de producción.

El tiempo de tránsito intestinal puede influir directamente en la digestibilidad del alimento y, con ello, la absorción de nutrientes (Rougiere y Carré, 2010; Ravindran, 2013). Asimismo, la composición mineral en la tibia indica la absorción de minerales y su papel en la mineralización de huesos (Abdulla *et al.*, 2017). Por último, el peso y pH de los órganos digestivos pueden ser afectados por la dieta al haber mayor estimulación mecánica y contacto con el alimento ingerido (Ravindran y Abdollahi, 2021; Scanes y Pierzchala-Koziec, 2014). De este modo, el presente estudio tuvo como objetivo evaluar el efecto de la suplementación de la tierra de diatomeas en el tiempo de tránsito intestinal, digestibilidad aparente de las dietas, peso y pH de intestinos, morfometría y mineralización ósea en pollos de engorde, y humedad de cama.

MATERIALES Y MÉTODOS

La presente investigación se realizó en la unidad experimental de pollos de engorde de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Científica del Sur, en Lima, Perú. La fase experimental tuvo una duración de ocho semanas, siendo una semana de preparación del ambiente, seis semanas de crianza y una semana en laboratorio para el procesamiento de las muestras. Las prácticas de manejo y procedimientos realizados en el estudio fueron aprobadas por el Comité de Ética de la Universidad Científica del Sur (Constancia N.º 105-CIEI-AB-CIENTÍFICA-2021).

Manejo de Aves

Se trabajó con 440 pollos de la línea Cobb 500, mitad machos y mitad hembras. Las aves provenían de una incubadora comercial (Genética Avícola SAC) de madres de 45 semanas de edad y contaban con vacunas contra Gumboro, bronquitis infecciosa y enfermedad de Newcastle. A su recibo se les realizó una evaluación clínica, evaluando la cicatrización del ombligo, y se pesaron individualmente (balanza digital Ohaus B08P3T2HQD, precisión ± 0.01 g), para ser distribuidos en cada box. Se obtuvo una uniformidad promedio de $92.4 \pm 1.3\%$. Las hembras tuvieron un peso promedio de 43 ± 1.2 g y los machos de 44 ± 2.3 g. Esto permitió evaluar la temperatura de crianza, teniendo la primera semana temperaturas promedio de 30.27 ± 1.26 °C con humedad relativa de $70.13 \pm 0.87\%$. En la segunda semana y tercera semana se tuvo 27.1 ± 1.32 °C y HR de $67.8 \pm 0.86\%$. En las semanas posteriores las temperaturas se mantuvieron entre 23.1 ± 1.8 °C y HR de $68.3 \pm 0.89\%$. La temperatura y la humedad fue registrada tres veces al día (08:00, 13:00, 18:00 h) durante toda la crianza.

Los pollos fueron distribuidos aleatoriamente entre los tratamientos experimentales y colocados en boxes dentro del galpón experimental. En el galpón se colocaron mantas en las paredes, ventanas y techos para mantener una temperatura adecuada. La cama fue de viruta (8-10 cm de altura) la cual fue removida todos los días y cambiada semanalmente. Durante los primeros siete días se utilizaron cercos nordex, focos y termohigrómetros (Boeco Boe 327, Alemania) en cada box.

El alimento fue brindado *ad libitum*. Durante la primera semana se utilizaron comederos de plástico para pollos bebé de 30 cm de diámetro y capacidad de 5 kg y bebederos tipo tonguito con capacidad para 2 L,

los cuales fueron reemplazados por comederos tipo tolva y bebederos plasjon automático hasta el final de la crianza. En casos de mortalidad se realizaron las necropsias para determinar la causa de muerte.

Diseño Experimental

Se realizaron dos ensayos, uno con machos y el otro con hembras. En cada ensayo las aves fueron distribuidas mediante un diseño completamente al azar con dos tratamientos, cinco repeticiones por tratamiento y 22 aves por repetición. En cada ensayo, los tratamientos fueron i) control sin tierra de diatomeas (TD) y ii) con TD.

Las aves recibieron dieta de inicio desde el día 0 hasta el día 10 de edad, dieta de crecimiento de 11 a 21 días y dieta de acabado de 22 a 42 días (Cuadro 1). Los tratamientos con TD fueron suplementados con un producto que consta de 95% de tierra de diatomeas (Kieselgur) y 5% de silicato aluminico-sódico-cálcico hidratado (Alquerfeed Diatom, Biovet S.A., España) en cantidad de 0.5 kg/t sobre la dieta basal.

Procedimiento Metodológico

Tiempo de tránsito intestinal

Para la medición del tiempo de tránsito intestinal, se seleccionaron tres pollos por repetición de manera aleatoria y se colocaron en las jaulas metabólicas en la fase de crecimiento y acabado. En la fase de crecimiento se consideraron 3 días de adaptación (de 13 a 15 días de edad). Se procedió con la medición de tiempo de tránsito intestinal por otros 3 días (16 a 18 días de edad). Estas aves se mantuvieron en las jaulas hasta culminar la etapa de acabado, recibiendo cada grupo la dieta experimental. La medición del tiempo de tránsito intestinal en la fase de acabado se realizó por 3 días (37 a 39 días de edad).

El tiempo de tránsito se midió (Hughes, 2008) como el tiempo transcurrido desde la ingestión de las dietas hasta la aparición de las excretas marcadas con el color característico del marcador (óxido de hierro). Los pollos pasaron por un ayuno de 2 h antes de ofrecerles el alimento con óxido de hierro como marcador. Todas las colectas se realizaron en la mañana. La medición del tiempo se hizo con un temporizador digital (Etradewinds, modelo ET-78) en cada jaula. Este procedimiento se realizó los tres días de colecta, procediéndose de la misma manera cada día y el tiempo de tránsito intestinal fue el promedio de las tres mediciones.

Digestibilidad aparente

La retención de nutrientes se realizó con las mismas aves utilizadas en la evaluación del tránsito intestinal y que se encontraban en las jaulas de metabolismo. La colecta de muestras de heces se realizó por 3 días colectando las muestras en las bandejas estercoleras dos veces al día (09:00 y 17:00 h). En la fase de crecimiento la colecta se realizó de los 19 a los 21 días y para la fase de acabado de 40 a 42 días de edad. Las heces fueron colocadas en bolsas ziploc, pesadas y congeladas. Después de 48 h, las muestras fueron descongeladas y homogenizadas, tomándose 150 g por muestra, las cuales fueron molidas en un molino de martillo (Modelo, 911MPEDWC100, España) para su posterior análisis.

Para el análisis bromatológico de las heces, en el análisis de proteína se empleó el método 990.03 (AOAC, 2019), el contenido de ceniza y determinación de energía bruta se realizó por bomba calorimétrica por el método 942.05 (AOAC, 2019), para el contenido de fibra, calcio y fósforo se utilizaron los métodos 962.09, 927.02 y 965.17, respectivamente (AOAC, 2019). Se registraron los resultados en unidades porcentuales. La energía bruta se expresó en kcal/kg. La digestibilidad aparente se expresó en porcentaje y todos los análisis se realizaron por triplicado.

Cuadro 1. Ingredientes y composición nutricional de dietas de aves en fase de inicio, crecimiento y acabado

	Fases de alimentación		
	Inicio	Crecimiento	Acabado
<i>Ingredientes</i>			
Maíz	62.59932	60.355	65.447
Torta de soya	27.3485	23.320	18.315
Soya integral	5	10	10
Aceite de soya	1.5851	2.429	2.547
Fosfato dicálcico	1.3054	1.600	1.427
Carbonato de calcio fino	1.0258	1.014	0.939
Sal común	0.2875	0.351	0.352
DL-metionina	0.3024	0.279	0.261
L-Lisina HCL	0.2201	0.218	0.234
Bicarbonato de sodio	0.150	0.150	0.150
Cloruro colina	0.0759	0.103	0.124
Treonina	-----	0.082	0.105
L-valina	0.007	-----	-----
Premix vit+min	0.100	0.100	0.100
<i>Composición</i>			
Materia seca (%)	88.19	89.13	88.12
Energía metabolizable (kcal/kg)	3020	3100	3170
Proteína cruda (%)	18.14	20	18.13
Fibra cruda (%)	3.33	3.57	3.33
Fósforo disponible (%)	0.38	0.42	0.38
Fósforo total (%)	0.61	0.66	0.61
Calcio (%)	0.76	0.84	0.76
Cloro (%)	0.31	0.31	0.31
Sodio (%)	0.20	0.20	0.20
Potasio (%)	0.76	0.78	0.70

Fase inicio (0-10 días), fase crecimiento (11-21 días), fase acabado (22-42 días)

Premix: Por cada kg se obtiene retinol (vitamina A): 12 000 000 UI, colecalciferol (vitamina D3): 5 000 000 UI, DL alfa tocoferol acetato (vitamina E): 30 000 UI, menadiona bisulfito (vitamina K3): 3 g, tiamina (vitamina B1): 2 g, riboflavina (vitamina B2): 10 g, piridoxina (vitamina B6): 3 g, cianocobalamina (vitamina B12): 0.015 g, ácido pantoténico (vitamina B5): 11 g, ácido fólico (vitamina B9): 2 g, niacina (vitamina B3): 30 g, biotina (vitamina B7): 0.15 g, manganeso: 80 g, zinc: 80 g, hierro: 50 g, cobre: 12 g, yodo: 1 g, selenio: 0.30 g

Humedad de cama

A los 21 y 42 días de edad se colectaron 50 g de cama en 5 zonas de la cama de viruta de cada box (esquinas y centro) evitando las áreas aledañas a los bebederos y comederos. De esta manera, se realizaron 5 mediciones por repetición. Las muestras fue-

ron mezcladas y homogeneizadas. Se extrajeron 100 g de cada muestra que fueron colocadas en bolsa ziploc previamente rotuladas. Las muestras fueron procesadas en el Laboratorio de Evaluación Nutricional de Alimentos (LENA) de la Universidad Nacional Agraria La Molina (UNALM), empleándose el método 950.46 (AOAC, 2005).

Peso y pH de intestinos

Se seleccionaron de manera aleatoria a tres pollos por repetición a los 21 y 42 días de edad. Las aves fueron pesadas y luego sacrificadas mediante dislocación cervical como es establecido por la Humane Slaughter Association (2013) para la edad de las aves. Se extrajeron los órganos abdominales y se pesaron los intestinos delgado y grueso considerando los segmentos de duodeno, yeyuno, íleon, ciegos y colon (balanza digital Ohaus B08P3T2HQD). Además, se midió el pH de cada porción del intestino delgado utilizando un electrodo previamente calibrado de un medidor portátil (pH-metro TEC- 3MP®, Meter Toledo, USA).

Las aves antes de la medición del pH y el peso de los intestinos se mantuvieron en ayuna por 2 horas con la finalidad de limpiar el mayor contenido posible de alimento y las heces de los intestinos. Primero, se midió el pH de cada porción del intestino delgado, incluyendo duodeno, yeyuno e íleon, realizando un corte transversal en cada segmento e insertando un electrodo previamente calibrado de un medidor portátil (pH-metro TEC-3MP®, Meter Toledo, USA). Luego, se extrajeron los intestinos para su posterior pesaje (balanza digital Ohaus B08P3T2HQD). Al momento del pesaje, los intestinos estaban vacíos debido al ayuno previo realizado. Para determinar el peso relativo de intestinos se utilizó la fórmula indicada por Rotiah *et al.* (2019): $\text{Peso relativo de intestinos (\%)} = [\text{Peso de intestinos (g)} / \text{Peso del ave (g)}] \times 100\%$.

Morfometría y mineralización de tibia

De las mismas aves sacrificadas para determinar el pH intestinal y el peso de los intestinos se tomaron las piernas, se retiró la masa muscular, separando los huesos para tener finalmente las dos tibias sin cartílago articular. Luego se procedió a retirar con alcohol los restos de músculo adherido y con una regla vernier se tomaron las medidas morfométricas de los huesos (largo y ancho),

se pesaron y se colocaron en una estufa a 105 °C por 24 h, para posteriormente volver a ser pesadas. Las tibias fueron molidas y procesadas en el LENA-UNALM para determinar la materia mineral (método oficial 999.11), fósforo (método oficial 965.17) y calcio (método oficial 935.13) de la AOAC (2019).

Análisis Estadístico

Los datos fueron registrados en hojas de cálculo de MS Excel. Se utilizó el software SAS v. 9.4 (2018) con el procedimiento de Modelo Lineal General (GLM) para el análisis estadístico. Se evaluó la normalidad de los datos con la prueba de Shapiro Wilk y la homogeneidad de varianzas con la prueba de Levene. Se hizo la comparación de los resultados por cada ensayo utilizando la prueba de t-Student con un nivel de significancia de 0.05%.

RESULTADOS

Tiempo de tránsito intestinal

Las aves de los dos sexos suplementados con TD presentaron mayor tiempo de tránsito intestinal ($p < 0.05$) en comparación con el grupo control, siendo mayor el tiempo en aves de mayor edad (Cuadro 2). La diferencia en las hembras fue de 14.5 y 10.6 min entre tratamientos a los 21 y 42 días, mientras que en los machos fue de 34.5 y 22.2 min a los 21 y 42 días, respectivamente.

Digestibilidad aparente

El uso de TD en la dieta de los pollos mostró una mayor digestibilidad aparente de proteínas a los 21 y 42 días de edad en comparación con los tratamientos control ($p < 0.05$; Cuadro 3). Además, a los 42 días de edad en ambos sexos se encontraron efectos significativos ($p < 0.05$) sobre la digestibilidad de cenizas, y solo en los machos sobre la digestibilidad de calcio ($p < 0.05$).

Cuadro 2. Tiempo de tránsito intestinal (minutos) en pollos Cobb 500 con o sin contenido en la dieta de tierra de diatomeas (TD) a los 21 y 42 días de edad (15 aves por tratamiento)

Edad (días)	Hembras				Machos			
	Control	TD	EEM ¹	<i>p</i> -valor	Control	TD	EEM	<i>p</i> -valor
21	157.71	172.17	13.311	<0.001	105.99	140.5	11.562	<0.001
42	170.84	181.39	12.714	0.01	199.26	221.47	13.721	0.003

¹ EEM: Error estándar de la media

Cuadro 3. Digestibilidad aparente (%) de nutrientes y energía (kcal/kg) en pollos Cobb 500 con o sin contenido en la dieta de tierra de diatomeas (TD) a los 21 y 42 días de edad (15 aves por tratamiento)

Edad (días)	Digestibilidad (%)	Hembras				Machos			
		Control	TD	EEM ¹	<i>p</i> -valor	Control	TD	EEM	<i>p</i> -valor
21	Proteína	65.21	67.16	0.781	0.001	68.21	70.32	0.642	0.005
	Fibra bruta	46.32	47.13	0.756	0.233	47.57	48.21	0.451	0.076
	Cenizas	57.82	57.98	0.384	0.121	59.08	60.86	0.231	0.075
	Calcio	57.12	57.56	0.141	0.104	58.87	59.14	0.118	0.090
	Fósforo	55.33	56.76	0.426	0.093	56.33	56.98	0.418	0.224
	Energía bruta (kcal/kg)	2339	2343	116.42	0.105	2344	2356	112.34	0.132
42	Proteína	67.32	69.67	0.114	0.001	69.57	73.05	0.133	0.001
	Fibra bruta	47.15	48.01	0.252	0.106	49.98	49.76	0.298	0.233
	Cenizas	59.34	61.66	0.142	0.001	60.34	61.78	0.107	0.030
	Calcio	58.52	59.85	0.115	0.052	59.00	60.56	0.152	0.021
	Fósforo	57.76	57.96	0.251	0.204	58.54	58.97	0.275	0.251
	Energía bruta (kcal/kg)	2342	2347	104.12	0.257	2357	2389	110.88	0.115

¹ EEM: Error estándar de la media

Peso absoluto y relativo de intestino

En el Cuadro 4 se observan diferencias estadísticas para el peso relativo de los intestinos para machos y hembras a los 21 y 42 días de edad ($p < 0.05$). En el caso de las hembras hubo efectos significativos para el peso relativo de los intestinos a los 21 días de edad, mientras que, a los 42 días de edad se observan diferencias estadísticas en el peso relativo y absoluto de los intestinos. En los ma-

chos solo se observan efectos de los tratamientos en el peso relativo de los intestinos a los 21 días de edad.

pH del intestino

El pH fue estadísticamente similar entre tratamientos en los segmentos intestinales de duodeno, yeyuno e ileon a los 21 y 42 días de edad en pollos de los dos sexos (Cuadro 5).

Cuadro 4. Peso absoluto (g) y relativo (%) del intestino delgado y grueso en pollos Cobb 500 con o sin contenido en la dieta de tierra de diatomeas (TD) a los 21 y 42 días de edad (15 aves por tratamiento)

Edad (días)	Variables	Hembras				Machos			
		Control	TD	EEM ¹	<i>p</i> -valor	Control	TD	EEM	<i>p</i> -valor
21	Peso ave (g)	1043.3	1087.4	98.71	0.103	1142.6	1196.0	93.44	0.098
	Peso intestino (g)	78.10	82.47	1.654	0.046	82.66	87.26	1.557	0.042
	Peso intestino (%)	7.49	7.58	0.763	0.050	7.23	7.30	0.841	0.051
42	Peso ave (g)	3034.3	3183.6	136.77	0.011	3345.0	3512.0	130.92	0.001
	Peso intestino (g)	126.31	134.38	3.56	0.021	131.5	138.4	3.603	0.050
	Peso intestino (%)	4.16	4.22	1.558	0.103	3.93	3.94	1.572	0.242

¹ EEM: Error estándar de la media

Cuadro 5. pH del intestino delgado en pollos pollos Cobb 500 con o sin contenido en la dieta de tierra de diatomeas (TD) a los 21 y 42 días de edad (15 aves por tratamiento)

Edad (días)	pH	Hembras				Machos			
		Control	TD	EEM ¹	<i>p</i> -valor	Control	TD	EEM	<i>p</i> -valor
21	Duodeno	5.3	5.4	0.098	0.135	5.5	5.4	0.102	0.233
	Yeyuno	6.1	6.3	0.245	0.215	6.1	6.2	0.276	0.315
	Íleon	7.1	7.2	0.144	0.254	7	7.1	0.172	0.256
42	Duodeno	5.5	5.6	0.076	0.233	5.6	5.7	0.085	0.253
	Yeyuno	6.3	6.5	0.095	0.156	6.5	6.7	0.087	0.178
	Íleon	7	7.2	0.176	0.207	7.1	7.3	0.114	0.233

¹ EEM: Error estándar de la media

Morfometría de tibia

El peso y medidas morfométricas de tibia se presentan en el Cuadro 6. No hubo diferencias significativas en las hembras en las dos edades en estudio ($p > 0.05$); sin embargo, en los machos se observó un efecto significativo ($p < 0.05$) sobre el ancho y peso de tibia a los 21 días, y sobre el largo de tibia a los 42 días de edad.

Mineralización de tibia

No se encontraron diferencias significativas ($p > 0.05$) en las variables de minera-

lización de las tibias en las hembras a las dos edades y en los machos a los 21 días de edad. Sin embargo, a los 42 días se observó un aumento significativo del contenido de calcio y fósforo en la tibia en los machos suplementados con TD (Cuadro 7).

Humedad de cama

Se observó una menor humedad ($p < 0.05$) en las camas de viruta de los pollos suplementados con TD en comparación con el grupo control, tanto a los 21 y 42 días de edad como en los dos sexos (Cuadro 8).

Cuadro 6. Medidas morfométricas de tibia en pollos Cobb 500 con o sin contenido en la dieta de tierra de diatomeas (TD) a los 21 y 42 días de edad (15 aves por tratamiento)

Edad (días)	Variables	Hembras				Machos			
		Control	TD	EEM ¹	<i>p</i> -valor	Control	TD	EEM	<i>p</i> -valor
21	Largo (mm)	69.83	69.22	2.97	0.569	70.29	70.71	1.68	0.497
	Ancho (mm)	6.1	6.24	0.53	0.480	6.3	6.58	0.36	0.044
	Peso (g)	2.68	2.65	0.35	0.835	2.75	3.05	0.24	0.002
42	Largo (mm)	99.09	99.01	3.28	0.963	105.19	107.67	2.13	0.049
	Ancho (mm)	8.39	8.58	0.46	0.459	9.36	9.85	0.14	0.144
	Peso (g)	6.96	7.2	0.68	0.518	9	9.04	1.97	0.968

¹ EEM: Error estándar de la media

Cuadro 7. Mineralización de tibia (cenizas, calcio y fósforo) en pollos Cobb 500 con o sin contenido en la dieta de tierra de diatomeas (TD) (15 aves por tratamiento)

Edad (días)	Variables	Hembras				Machos			
		Control	TD	EEM ¹	<i>p</i> -valor	Control	TD	EEM	<i>p</i> -valor
21	Cenizas	44.94	44.48	0.51	0.192	44.94	45.48	1.25	0.516
	Calcio	14.72	14.74	0.34	0.928	14.7	15.06	0.51	0.294
	Fósforo	7.2	6.96	0.39	0.362	6.96	7.42	0.55	0.221
42	Cenizas	50.44	50.9	0.36	0.078	50.2	51.62	1.06	0.067
	Calcio	17.76	18.06	0.39	0.263	17.84	19.46	0.92	0.023
	Fósforo	10.56	11	0.95	0.102	10.52	11.22	0.29	0.005

¹ EEM: Error estándar de la media

Cuadro 8. Humedad (%) de cama de viruta de pollos Cobb 500 con o sin contenido en la dieta de tierra de diatomeas (TD)

Edad (días)	Hembras				Machos			
	Control	TD	EEM ¹	<i>p</i> -valor	Control	TD	EEM	<i>p</i> -valor
21	26.2	24.3	0.235	0.014	27.5	24.6	0.255	0.009
42	31.4	29.1	0.146	0.002	32.54	29.56	0.179	<0.001

¹ EEM: Error estándar de la media

N= 15 mediciones por tratamiento (5 muestras por tratamiento analizadas en triplicado)

DISCUSIÓN

En la producción avícola se busca optimizar el tiempo de tránsito intestinal con el fin de mejorar los parámetros productivos. Se han realizado múltiples estudios con el uso

de aditivos en la dieta del pollo de engorde evaluando el tiempo de tránsito intestinal y la viscosidad de las heces, incluyendo trigo entero, molido o salvado de trigo (Svihus *et al.*, 2002; Shang *et al.*, 2020), agua acidificada (Ndelekwute, 2018), glicerol crudo y sebo o

grasa animal (Golian y Maurice, 1992; Kim *et al.*, 2013), fitasas exógenas (Watson *et al.*, 2006), entre otros.

En el presente estudio, la adición de tierra de diatomeas en el alimento mostró un mayor tiempo de tránsito intestinal comparado con el tratamiento control (Cuadro 1). En este sentido, Ouhida *et al.* (2000) reportaron un aumento significativo del tiempo de retención del alimento en el intestino delgado con la suplementación de sepiolita, un mineral de la familia de los silicatos. Este resultado podría atribuirse a la característica absorbente de la tierra de diatomeas, de manera que ralentiza el pasaje del alimento por el tracto gastrointestinal. Por otro lado, Pasha *et al.* (2008) sugirieron que la adición de bentonita de sodio, un mineral aluminosilicato, incrementa el tiempo de retención del alimento en el intestino aumentando de esta manera la digestibilidad de los nutrientes.

La mayor diferencia en digestibilidad aparente se presentó en las proteínas (Cuadro 3), resultado similar al obtenido por Safaeikatouli *et al.* (2012a) en el segmento del íleon con la adición de caolín y zeolita al 3%, minerales aluminosilicatos, a comparación del grupo control. De la misma manera, Zhou *et al.* (2014) reportaron un aumento de la digestibilidad aparente de proteína cruda con la suplementación de zeolita, Pasha *et al.* (2008) reportaron un aumento en la retención y digestibilidad de proteínas en dietas con la adición de bentonita, y Yalçын *et al.* (2017) encontraron un incremento significativo de la digestibilidad de proteínas en el íleon en dietas suplementadas con sepiolita al 1%. Este efecto en la digestibilidad de proteínas también se ha descrito en ovinos Dohne-Merino con la adición de TD en la dieta (Ikusika *et al.*, 2019).

En el caso de energía y fibra bruta no se encontró un efecto significativo en el tiempo de tránsito intestinal, lo cual va acorde con resultados en otros estudios (Ly *et al.*, 2007; Safaeikatouli *et al.*, 2012a; Li y Kim, 2013; Ikusika *et al.*, 2019). No obstante, Zhou *et*

al. (2014) reportaron un aumento significativo en la energía bruta en pollos de engorde suplementados con zeolita, en tanto que Ly *et al.* (2007) encontraron mayor digestibilidad de energía a nivel del íleon en dietas suplementadas con zeolita al 5% en cerdos.

La digestibilidad de calcio solo fue mejorada en los machos a los 42 días de edad, mientras que la digestibilidad de fósforo no presentó diferencias significativas entre tratamientos. Asimismo, Yalçын *et al.* (2017) tampoco reportaron diferencias significativas en la digestibilidad de calcio y fósforo en dietas suplementadas con sepiolita al 1%. Estos resultados contrastan con los obtenidos por Huntington *et al.* (1977) quienes encontraron una disminución significativa en la retención de fósforo al adicionar con bentonita al 8% en la dieta de ovinos, pero sin diferencias en la retención de calcio.

Con respecto al peso de intestinos, si bien no se encontró diferencias estadísticas con el peso relativo entre tratamientos, se pudo observar un aumento del peso absoluto al suplementar con TD en pollos machos y hembras, así como en el peso de las aves. Asimismo, Wu *et al.* (2013), al suplementar clinoptilolita en la dieta de pollos de engorde tampoco encontraron diferencias estadísticas en el peso relativo de los segmentos intestinales entre tratamientos y el grupo control, pero encontraron un menor peso del duodeno con la dieta experimental a los 42 días de edad.

Por otro lado, la histomorfometría de los intestinos puede influir en su peso. Así, Wu *et al.* (2013) reportaron un aumento significativo en la altura de vellosidades intestinales a nivel del yeyuno e íleon en pollos con dietas suplementadas con clinoptilolita, mientras que Yalçын *et al.* (2017) y Lemos *et al.* (2015) obtuvieron un aumento significativo en la altura de las vellosidades en duodeno con suplementos a base de sepiolita al 1 y 2% y con caolín al 0.75 y 1.5%, respectivamente. En general, se han reportado estudios con efectos sobre las medidas histomorfométricas en

diversos segmentos intestinales con la suplementación de minerales aluminosilicatos (Qiao *et al.*, 2015; Saçakli *et al.*, 2015; Wawrzyniak *et al.*, 2017).

El aditivo utilizado no tuvo efectos significativos sobre el pH intestinal, al igual que en el estudio de Yalçyn *et al.* (2017), donde midieron el pH del proventrículo, molleja, e intestinos con dietas suplementadas con sepiolita al 1 y 2%. No obstante, Wu *et al.* (2013) trabajaron con suplementación de clinoptilolita en pollos de engorde, obteniendo una reducción significativa del pH del ciego a las 6 semanas de edad, pero ninguna en las fases de crecimiento y acabado. En forma similar, Abas *et al.* (2011b) reportaron una disminución del pH del íleon con dietas suplementadas con zeolita a los 42 días de edad, mas no a los 21 días.

La suplementación de TD no tuvo efecto significativo sobre la morfometría de tibia y mineralización ósea, a excepción de ciertos valores en los machos como el ancho y peso de tibia a los 21 días y el largo de tibia a los 42 días, además de incrementar el contenido de calcio y fósforo en machos a los 42 días de edad. Estos resultados se ven apoyados por otros estudios que reportan efectos significativos de la adición de minerales aluminosilicatos sobre la mineralización y morfometría de huesos (Sahin *et al.*, 2006; Adebiyi *et al.*, 2009; Safaeikatouli *et al.*, 2012b; Burton *et al.*, 2020), aunque hay otros reportes que no muestran estos efectos (Merkley y Miller, 1983; Abas *et al.*, 2011a; Saçakli *et al.*, 2015).

Burton *et al.* (2020) encontraron un aumento significativo de la fuerza de tibia a los 21 y 35 días de edad en pollos suplementados con silicio, aunque el contenido de cenizas, calcio y fósforo en tibia no se vio alterado. Asimismo, Safaeikatouli *et al.* (2012b) reportaron un incremento en el grosor de la pared de la tibia en dietas suplementadas con caolín al 3%, con bentonita al 3% y zeolita al

1.5 y 3%, en tanto que el largo tibiotarsal se incrementó con las dietas con bentonita y zeolita al 3%. Sin embargo, las medidas morfométricas del presente estudio no mostraron cambios significativos entre tratamientos.

Con respecto a la mineralización, Safaeikatouli *et al.* (2012b) reportaron un aumento significativo del contenido de ceniza y calcio de tibia en dietas suplementadas con zeolita al 3% y de calcio con bentonita al 1.5%. Adebiyi *et al.* (2009) también reportaron un incremento del contenido de cenizas, calcio y fósforo en tibia en dietas suplementadas con tierra de diatomeas al 2, 4 y 6% en gallos jóvenes, aunque sin presentar diferencias en las medidas morfométricas. Por otro lado, se reporta un aumento en la densidad mineral de hueso, y contenido de calcio, fósforo, magnesio y manganeso en tibia en dietas de codornices suplementadas con un complejo de arginina silicato inositol (Sahin *et al.*, 2006).

Uno de los beneficios de la adición de tierras de diatomeas en la dieta es su capacidad de absorción siendo utilizado para disminuir la humedad de cama. En el presente estudio se demostró una disminución de la humedad de cama del grupo suplementado en comparación con el tratamiento control a los 21 y 42 días. Resultados similares fueron obtenidos por Lemos *et al.* (2015), adicionando 0.75 y 1.5% de caolín en la dieta de pollos de engorde. Asimismo, Safaei *et al.* (2010) y Miles y Henry (2007) encontraron una menor humedad en las heces de aves suplementadas con 1.5% de caolín, 3% de bentonita y 3% de zeolita, en el primer caso y con un producto a base de aluminosilicato de calcio y sodio hidratado en el segundo. No obstante, Yalçyn *et al.* (2017) no encontraron efecto alguno en la humedad de cama en dietas suplementadas con sepiolita al 1 y 2%, lo cual pudo deberse a la reducida cantidad de pollos por box y las condiciones de manejo con las que se realizó el estudio.

CONCLUSIONES

- La suplementación de tierra de diatomeas en la dieta de pollos de engorde aumentó el tiempo de tránsito intestinal, la digestibilidad de proteínas, cenizas y calcio, y disminuyó la humedad de cama tanto en hembras como en machos; sin embargo, no se observaron efectos significativos sobre el peso y pH de los intestinos.
- El efecto de la suplementación de tierra de diatomeas sobre la morfometría y mineralización ósea fue variable y se requieren mayores estudios al respecto.

LITERATURA CITADA

1. **Abas I, Bilal T, Ercag E, Keser O. 2011a.** The effect of organic acid and zeolite addition alone and in combination on the bone mineral value in broiler fed different dietary phosphorus levels. *Asian J Anim Vet Adv* 6: 678-687. doi: 10.3923/ajava.2011.678.687
2. **Aba I, Bilal T, Eseceli H. 2011b.** The effect of organic acid, zeolite, or their combination on performance, some serum indices, and ileum pH values in broilers fed with different phosphorus levels. *Turk J Vet Anim Sci* 35: 337-344. doi: 10.3906/vet-1103-2
3. **Abdulla NR, Teck Chwen Loh, Henny Akit, Awis Qurni Sazili, Hooi Ling Foo, Karwan Yaseen, Kareem, et al. 2017.** Effects of dietary oil sources, calcium and phosphorus levels on growth performance, carcass characteristics and bone quality of broiler chickens. *J Appl Anim Res* 45::423-429. doi: 10.1080/09712119.2016.1206903
4. **Adebisi OA, Sokunbi OA, Ewuola EO. 2009.** Performance evaluation and bone characteristics of growing cockerel fed diets containing different levels of diatomaceous earth. *Middle East J Sci Res* 4: 36-39.
5. **AOAC. 2019.** Official methods of analysis of AOAC Int. 21st ed. Rockville, MD: AOAC International.
6. **Burton EJ, Scholey DV, Belton DJ, Bedford MR, Perry CC. 2020.** Efficacy and stability of a novel silica supplement for improving bone development in broilers. *Brit Poultry Sci* 61: 719-724. doi: 10.1080/00071668.2020.179-9328
7. **Ferreira ACK, Alfaro DM, Silva LCC, Romani F, Lourenço MC, Vargas F, Santin E. 2005.** O uso do aluminossilicato (silvet®) como adjuvante na melhora do aspecto das fezes e desempenho das aves. *Arch Vet Sci* 10: 117-122.
8. **Golian A, Maurice DV. 1992.** Dietary poultry fat and gastrointestinal transit time of feed and fat utilization in broiler chickens. *Poultry Sci* 71: 1357-1363. doi: 10.3382/ps.0711357
9. **Hameed HM. 2021.** Feed additives in poultry. *Assiut Vet Med J* 67: 87-100.
10. **Hughes RJ. 2008.** Relationship between digesta transit time and apparent metabolisable energy value of wheat in chickens. *Brit Poultry Sci* 49: 716-720. doi: 10.1080/00071660802449145
11. **Humane Slaughter Association. 2013.** Sacrificio práctico de aves de corral. [Internet]. Disponible en: <https://www.hsa.org.uk/downloads/sacrificiopRACTICodeavesdecorral.pdf>
12. **Huntington GB, Emerick RJ, Embry LB. 1977.** Sodium bentonite effects when fed at various levels with high concentrate diets to lambs. *J Anim Sci* 45: 119-125. doi: 10.2527/jas1977.451119x
13. **Ikusika OO, Mpendulo CT, Zindove TJ, Okoh AI. 2019.** Effect of varying inclusion levels of fossil shell flour on growth performance, water intake, digestibility and n retention in Dohne Merino wethers. *Animals* 9: 565. doi: 10.3390/ani9080565
14. **Isabirye RA, Biryomumaisho S, Okello S, Acai-Okwee J, Nasinyama GW. 2021.** Effect of diatomaceous earth

- on growth rate, egg production, feed conversion efficiency and parasitic load in hens raised on deep litter. *Eur J Agric Food Sci* 3: 97-103. doi: 10.24018/efjfood.2021.3.1.207
15. **Isabirye RA, Waiswa C, Kabi F, Nanyeenya WN, Biryomumaisho S, Acai-Okwee J, Okello S, et al. 2019.** Efficacy of diatomaceous earth on *Ascaridia galli*, blood parameters and on ectoparasites in chicken. *J Agric Sci Food Technol* 5: 205-217. doi: 10.36630/jasft_19045
 16. **Kim JH, Seo S, Kim CH, Kim JW, Lee BB, Lee GI, Shin HS, Kim MC, Kil DY. 2013.** Effect of dietary supplementation of crude glycerol or tallow on intestinal transit time and utilization of energy and nutrients in diets fed to broiler chickens. *Livest Sci* 154: 165-168. doi: 10.1016/j.livsci.2013.03.005
 17. **Köster H. 2010.** Diatoms in animal feeds - All about feed. [Internet]. Disponible en: <https://www.allaboutfeed.net/home/diatoms-in-animal-feeds/>
 18. **Lemos MJ, Calixto LF, Alves O, Souza DS, Moura BB, Reis TL. 2015.** Kaolin in the diet and its effects on performance, litter moisture and intestinal morphology of broiler chickens. *Cienc Rural* 45: 1835-1840. doi: 10.1590/0103-8478cr-20141193
 19. **Li J, Kim IH. 2013.** Effects of dietary supplementation of sericite on growth performance, nutrient digestibility, blood profiles and fecal microflora shedding in growing pigs. *Anim Feed Sci Tech* 184: 100-104. doi: 10.1016/j.anifeedsci.2013.04.010
 20. **Liu JD, Fowler J. 2016.** Effect of inert fillers with changing energy-protein ratio on growth performance and energy digestibility in broilers. *J Appl Poultry Res* 26: 168-174. doi: 10.3382/japr/pfw057
 21. **Ly J, Grageola F, Lemus C, Castro M. 2007.** Ileal and rectal digestibility of nutrients in diets based on leucaena (*Leucaena leucocephala* (Lam) de Wit) for pigs. Influence of the inclusion of zeolite. *J Anim Vet Adv* 6: 1371-1376.
 22. **Maurer V, Perler E. 2006.** Silicas for control of the poultry red mite *Dermanyssus gallinae*. Proc European Joint Organic Congress. Odense, Denmark.
 23. **McLean B, Frost D, Evans E, Clarke A, Griffiths B. 2005.** The inclusion of diatomaceous earth in diet of grazing ruminants and its effect on gastrointestinal parasite burdens. Proc First Scientific Conference of the International Society of Organic Agriculture Research (ISO FAR). Australia.
 24. **Merkley JW, Miller ER. 1983.** The effect of sodium fluoride and sodium silicate on growth and bone strength of broilers. *Poultry Sci* 62: 798-804. doi: 10.3382/ps.0620798
 25. **Miles RD, Henry PR. 2007.** Safety of improved Milbond-TX when fed in broiler diets at greater than recommended levels. *Anim Feed Sci Tech* 138: 309-317. doi: 10.1016/j.anifeedsci.2007.04.008
 26. **Ndelekwute EK. 2018.** Apparent nutrient digestibility, gut pH and digesta viscosity of broiler chickens fed acidified water. *MOJ Anat Physiol* 5: 250-253. DOI: 10.15406/mojap.2018.05.00203
 27. **Nkwana AT, Hoon JH, Fourie PJ. 2019.** The effect of different inclusion levels of diatomaceous earth in feedlot diets on the performance of lambs. *Grootfontein Agric* 19: 66-72.
 28. **Ouhida I, Perez JF, Gasa J, Puchal F. 2000.** Enzymes (b-glucanase and arabinoxylanase) and/or sepiolite supplementation and the nutritive value of maize-barley-wheat based diets for broiler chickens. *Brit Poultry Sci* 41: 617-624. doi: 10.1080/713654974
 29. **Pasha T, Mahmood A, Khattak F, Jabbar M, Khan A. 2008.** The effect of feed supplemented with different sodium bentonite treatments on broiler performance. *Turk J Vet Anim Sci* 32: 245-248.
 30. **Qiao L, Chen Y, Wen C, Zhou Y. 2015.** Effects of natural and heat modified palygorskite supplementation on the laying performance, egg quality, intestinal morphology, digestive enzyme activity

- and pancreatic enzyme mRNA expression of laying hens. *Appl Clay Sci* 104: 303-308. doi: 10.1016/j.clay.2014.12.010
31. **Ravindran V. 2013.** Feed enzymes: The science, practice, and metabolic realities. *J Appl Poult Res* 22: 628-636. doi: 10.3382/japr.2013-00739
 32. **Ravindran V, Abdollahi R. 2021.** Nutrition and digestive physiology of the broiler chick: state of the art and outlook. *Animals* 11: 2795. doi: 10.3390/ani11102795
 33. **Rougiere N, Carré B. 2010.** Comparison of gastrointestinal transit times between chickens from D1 and D2 genetic lines selected for divergent digestion efficiency. *Animal* 4: 1861-1872. doi: 10.1017/S1751731110001266
 34. **Rotiah R, Widiastuti E, Sunarti D. 2019.** Relative weight of small intestine and lymphoid organ of finisher period broiler chicken at different rearing temperatures. *J Anim Res Appl Sci* 1: 6-10. doi: 10.22219/aras.v1i1.8299
 35. **Saçaklı P, Calik A, Bayraktaroglu A, Ergun A, Sahan O, Ozaydin S. 2015.** Effect of clinoptilolite and/or phytase on broiler growth performance, carcass characteristics, intestinal histomorphology and tibia calcium and phosphorus levels. *Kafkas Univ Vet Fak* 21: 729-737. doi: 10.9775/kvfd.2015.13283
 36. **Safaei M, Boldaji F, Dastar B, Hassani S. 2010.** Effect of different levels of kaolin, bentonite and zeolite on broilers performance. *Merkley JW, Miller ER. 1983.* The effect of sodium fluoride and sodium silicate on growth and bone strength of broilers. *Poultry Sci* 62: 798-804. doi: 10.3382/ps.0620798
 37. **Safaeikatouli M, Boldaji B, Dastar B, Hassani S. 2012a.** The effect of dietary silicate minerals supplementation on apparent ileal digestibility of energy and protein in broiler chickens. *Int J Agric Biol* 14: 299-302.
 38. **Safaeikatouli M, Boldaji B, Dastar B, Hassani S. 2012b.** Growth response and tibia bone characteristics in broilers fed diets containing kaolin, bentonite and zeolite. *J Anim Feed Sci* 21: 334-344. doi: 10.22358/jafs/66085/2012
 39. **Sahin K, Onderci M, Sahin N, Balci TA, Gursu MF, Juturu V, Kucuk O. 2006.** Dietary arginine silicate inositol complex improves bone mineralization in quail. *Poultry Sci* 85: 486-492. doi: 10.1093/ps/85.3.486
 40. **Scanes CG, Pierzchala-Koziec K. 2014.** Biology of the gastrointestinal tract in poultry. *Avian Biol Res* 7: 193-222. doi: 10.3184/175815514X14162292284822
 41. **Serôdio J, Lavaud J. 2020.** Diatoms and their ecological importance. In: Leal Filho W, Azul AM, Brandli L, *et al.* (eds). *Life below water. Encyclopedia of the UN Sustainable Development Goals.* Springer. https://doi.org/10.1007/978-3-319-71064-8_12-1
 42. **Shang Q, Wu D, Liu H, Mahfuz S, Piao X. 2020.** The impact of wheat bran on the morphology and physiology of the gastrointestinal tract in broiler chickens. *Animals* 10: 1831. doi: 10.3390/ani10101831
 43. **Svihus B, Hetland H, Choct M, Sundby F. 2002.** Passage rate through the anterior digestive tract of broiler chickens fed on diets with ground and whole wheat. *Brit Poultry Sci* 43: 662-668. doi: 10.1080/0007166021000025037
 4. **Tran ST, Bowman ME, Smith TK. 2015.** Effects of a silica-based feed supplement on performance, health, and litter quality of growing turkeys. *Poultry Sci* 94: 1902-1908. doi: 10.3382/ps/pev158
 45. **Watson BC, Matthews JO, Southern LL, Shelton JL. 2006.** The effects of phytase on growth performance and intestinal transit time of broilers fed nutritionally adequate diets and diets deficient in calcium and phosphorus. *Poultry Sci* 85: 493-497. doi: 10.1093/ps/85.3.493.

46. **Wawrzyniak A, Kapica M, Stepien-Pysniak D, Łuszczewska-Sierakowska I, Szewerniak R, Jarosz Ł. 2017.** The effect of dietary supplementation of transcarpathian zeolite on intestinal morphology in female broiler chickens. *J Appl Poultry Res* 26: 421-430. doi:10.3382/japr/pfx011
47. **Wiewiora M, Lukaszewicz M, Bartosik J, Makarski M, Niemiec T. 2015.** Diatomaceous earth in the prevention of worm infestation in purebred pigeons. *Ann Warsaw Univ Life Sci - SGGW Anim Sci* 54: 161-166.
48. **Wu Q, Zhou Y, Wu Y, Wang T. 2013.** Intestinal development and function of broiler chickens on diets supplemented with clinoptilolite. *Asian Austral J Anim* 26: 987-994. doi: 10.5713/ajas.2012.-12545
49. **Yalçın S, Yalçın S, Gebeş ES, Bahin A, Duyum HM, Escibano F, Ceylan A. 2017.** Sepiolite as a feed supplement for broilers. *Appl Clay Sci* 148: 95-102. doi: 10.1016/j.clay.2017.08.007
50. **Zhou P, Tan YQ, Zhou YM, Gao F, Zhou GH. 2014.** Effects of dietary supplementation with the combination of zeolite and attapulgite on growth performance, nutrient digestibility, secretion of digestive enzymes and intestinal health in broiler chickens. *Asian Austral J Anim* 27: 1311-1318. doi: 10.5713/ajas.2014.-14241