

## ***Mucuna pruriens* grain meal, germinated and non-germinated, for broilers: their effect on physiological indicators**

### **Harina de granos de *Mucuna pruriens*, germinados y sin germinar, para pollos de ceba: su efecto en indicadores fisiológicos**

Madeleidy Martínez-Pérez, María Felicia Díaz, Yasmila Hernández, Mariela Sarmiento,  
Lucía Sarduy and F. Sierra

*Instituto de Ciencia Animal, km 47 ½ Carretera Central, San José de Las Lajas, Mayabeque, Cuba*  
Email: mademar@ica.co.cu

In order to evaluate the replacement of soybean by *Mucuna pruriens* (mucuna) grain meal, germinated and non-germinated, in physiological indicators of broilers, a total of 30 male broilers of 21 d of age were used, distributed according to completely randomized design with three treatments. These consisted of an equal number of experimental diets for grower and finisher, respectively: control (maize-soybean paste) and the inclusion of soybean paste by 10% of grain meal of the raw and germinated legume of the ration. Caecal, health and morphometric indicators of the gastrointestinal tract (GIT) were studied. To the latter, Pearson correlation was performed and, later, multivariate analysis using the principal components method. There was a correlation between the 27 variables studied in the morphometric indicators. The production of total short chain fatty acids (SCFA) in cecum was lower with the inclusion of grain meal of the non-germinated legume compared with the rest of treatments that did not differ between each other (176.44 vs 208.30 and 211.20 meq/L). No differences were observed for the immunological organs, blood indicators and main components of carcass and live weight. It is concluded that when supplying diets to birds with mucuna grains, germinated and non-germinating, the GIT weight was modified to make a more efficient use of the food and did not affect the health or the body composition of the broiler which intake the diet.

Key words: *legume, germination, physiology, birds*

Legume grains have been widely studied. They highlight as a source of protein and other nutrients, attractive for animal feeding (Brand *et al.*, 2004, Carbonaro *et al.* 2015). The disadvantages of its use are related to the presence of anti-nutritional factors (ANFs) (Elizalde *et al.* 2009, Huang *et al.* 2014). For this reason, different alternative methods have been used to attenuate or reduce these limitations, as in the case of germination.

According to Sarmento (2012) and Benítez *et al.* (2013), the germination process generally improves the nutritional quality of legumes, not only by reducing the anti-nutrient components but also by increasing the levels of free amino acids, usable carbohydrates, dietary fiber and other components.

Díaz *et al.* (2009) studied three variants of the germination process in temporal grain legumes (*Canavalia ensiformes*, *Mucuna pruriens*, *Vigna unguiculata* and *Glycinemax*) and concluded that, given the practical feasibility of obtaining them, the variant

Para evaluar la sustitución de soya por harina de granos de *Mucuna pruriens* (mucuna), germinados y sin germinar, en indicadores fisiológicos de pollos de engorde, se utilizaron 30 pollos de ceba machos, de 21 d de edad, distribuidos según diseño completamente aleatorizado con tres tratamientos. Estos consistieron en igual número de dietas experimentales para crecimiento y acabado, respectivamente: control (maíz-pasta de soya) y la inclusión de pasta de soya por 10 % de harina de granos de la leguminosa cruda y germinada de la ración. Se estudiaron indicadores fermentativos cecales, de salud y morfométricos del tracto gastrointestinal (TGI). A estos últimos, se les realizó correlación de Pearson y, posteriormente, análisis multivariado por el método de componentes principales. Hubo correlación entre las 27 variables en estudio de los indicadores morfométricos. La producción de ácidos grasos de cadena corta (AGCC) totales en ciego fue menor con la inclusión de harina de granos de la leguminosa sin germinar en comparación con el resto de los tratamientos que no difirieron entre sí (176.44 vs 208.30 y 211.20 meq/L). No se observaron diferencias para los órganos inmunológicos, indicadores sanguíneos y principales componentes de las canales y peso vivo. Se concluye que al suministrar dietas a las aves con granos de mucuna, germinados y sin germinar, se modificó el peso del TGI para hacer un uso más eficiente del alimento y no afectar la salud ni la composición corporal de los pollos de ceba que la consumen.

Palabras clave: *leguminosa, germinación, fisiología, aves*

Los granos de leguminosas se han estudiado ampliamente. Se destacan como fuente de proteínas y de otros nutrientes, atractivos para la alimentación animal (Brand *et al.* 2004, Carbonaro *et al.* 2015). Los inconvenientes de su empleo están relacionados con la presencia de factores antinutricionales (FANs) (Elizalde *et al.* 2009, Huang *et al.* 2014). Por ello, se han empleado diferentes métodos alternativos para atenuar o disminuir estas limitaciones, como es el caso de la germinación.

Según Sarmento (2012) y Benítez *et al.* (2013), el proceso de germinación mejora, generalmente, la calidad nutricional de las legumbres, no solo por la reducción de los componentes antinutritivos sino por el aumento de los niveles de aminoácidos libres, carbohidratos aprovechables, fibra alimentaria y otros componentes.

Díaz *et al.* (2009) estudiaron tres variantes del proceso de germinación en leguminosas de granos temporales (*Canavalia ensiformes*, *Mucuna pruriens*, *Vigna unguiculata* y *Glycinemax*) y concluyeron que, dada la factibilidad práctica de su obtención, la variante

of illumination intervals could be used for studies in animal feeding.

Although the chemical composition and physical characteristics of this variant have been widely studied, little has been reported of its use in monogastric animals. Therefore, the objective of this study was to determine the morphometric, fermentative and health indicators in broilers that intake grain meal, germinated and non-germinating, of *Mucuna pruriens* (mucuna) in the ration.

### Materials and Methods

*Animals and diets.* Thirty male broilers (hybrid HE21) were used, with 765g as average and 21d of age. They were randomly allocated in individual cages for metabolism, with dimensions of 40 x 40 x 40 cm. During the experimentation period, the animals had free access to water and food.

The experimental treatments consisted on three diets for grower and finisher (table 1), elaborated according to NRC (1994): 1) control (maize-soybean paste); 2) inclusion of 10% of mucuna grain meal without germinating in the ration; 3) inclusion of 10% of meal of germinated mucuna grain.

*Obtaining of mucuna grain meal, germinated and non-germinated.* The grains of mucuna, pint variety, were obtained from a plantation of the farm ICA, located

de intervalos de iluminación se podía emplear para estudios en la alimentación animal.

A pesar de que han sido ampliamente estudiadas la composición química y las características físicas de esta variante, poco se ha informado de su empleo en animales monogástricos. Por ello, el objetivo de este estudio fue determinar los indicadores morfométricos, fermentativos y de salud en pollos de ceba que consumen harina de granos, germinados y sin germinar, de *Mucuna pruriens* (mucuna) en la ración.

### Materiales y Métodos

*Animales y dietas.* Se utilizaron 30 pollos de ceba machos (híbrido HE21), con peso promedio de 765 g y 21 días de edad. Se alojaron de manera aleatoria en jaulas individuales para metabolismo, con dimensiones de 40 x 40 x 40 cm. Durante el tiempo de experimentación, los animales tuvieron libre acceso al agua y al alimento.

Los tratamientos experimentales consistieron en tres dietas para crecimiento y acabado (tabla 1), elaboradas según la NRC (1994): 1) control (maíz-pasta de soya); 2) inclusión de 10 % de harina de granos de mucuna sin germinaren la ración; 3) inclusión de 10 % de harina de granos de mucuna germinados.

*Obtención de la harina de granos de mucuna, germinados y sin germinar.* Los granos de mucuna, variedad pinta, se obtuvieron de una plantación de la

Table 1. Composition of experimental diets with non germinated and germinated mucuna grains for broilers.

Ingredients (%)	Grower			Finisher		
	Control	Meal of non-germinated mucuna grains	Meal of germinated mucuna grains	Control	Meal of non-germinated mucuna grains	Meal of germinated mucuna grains
Maize meal	55.27	55.07	55.07	59.37	58.00	58.00
Soybean paste	35.00	25.30	25.30	30.80	22.27	22.27
Meal of non-germinated mucuna grains	-	10.00	-	-	10.00	-
Meal of germinated mucuna grains	-	-	10.00	-	-	10.00
Oil	4.90	4.90	4.90	4.90	4.90	4.90
Dicalcium phosphate	1.60	1.50	1.50	1.60	1.50	1.50
Mineral- vitamin <sup>1</sup> premixture	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Common salt	0.36	0.36	0.36	0.36	0.36	0.36
Calcium carbonate	1.69	1.69	1.69	1.79	1.79	1.79
DL-Methionine	0.18	0.18	0.18	0.18	0.18	0.18
Composition <sup>2</sup> (%)						
DM	89.79	89.04	88.23	86.69	86.11	85.98
N	3.19	3.08	3.17	2.88	2.70	2.80
NDF	62.70	60.54	61.58	64.35	62.59	61.54

<sup>1</sup> Vitamin supplement: vitamin. A, 10 000UI; vitamin. D3, 2 000 UI; vitamin. E, 10 mg; vitamin. K, 2 mg; thiamine, 1 mg; riboflavin, 5 mg; pyridoxine, 2 mg; vitamin. B12, 15.4 µg; nicotinic acid, 125 mg; calcium pantothenate, 10 mg; folic acid, 0.25 mg; biotin, 0.02 mg. Mineral supplement: selenium, 0.1 mg; iron, 40 mg; copper, 12 mg; zinc, 120 mg; magnesium 100 mg; iodine, 2.5 mg; cobalt 0.75 mg.

<sup>2</sup>Data expressed in dry basis

in Mayabeque province, Cuba.

The germination process was carried out in the Grasses and Forages Department from the Instituto de Ciencia Animal. Light intervals of 12 h light and an equal amount of darkness were used for 96 h, as described by Díaz *et al.* (2004).

Both grains, germinated and non-germinated, were dried in a stove at 60 °C for 48 h. Then they were ground in a hammer mill to obtain the meal. They were kept in sacks until the moment of their use.

*Experimental procedure.* The experiment was carried out at the Instituto de Ciencia Animal.

At 42 d, the animals were weighed and individually slaughtered two hours and thirty minutes after feed ingestion by the jugular vein bleeding method described by Sánchez (1990). Subsequently, the abdominal cavity was opened and accessory organs (liver and pancreas) and immunological (Bursa of Fabricius and spleen) and digestive tract were removed. The latter was divided for their analysis in crop, proventriculus, gizzard, small intestine (duodenum, jejunum, ileum), caecum and final portion (colon and rectum).

The digestive organs were weighed full and empty (eliminating the digestive contents by moving the index finger and thumb to empty them) in a technical balance brand SARTORIUS.

The skin and the feathers were separated from the canals after eviscerated. The heart and fat content were weighed. Subsequently, the primary cuts (legs and breast) were made. For the statistical analysis, the weights were expressed as relative to live weight (LW).

*Caecal fermentative indicators.* The total short chain fatty acid determinations (total SCFA) were performed in appropriate dilutions, after centrifugation at 3,000 rpm. a gram of caecal content in 1:10 dilution with distilled water, and after discarding the precipitate (Ly *et al.*, 1980). The sample fermentation was stopped by the addition of mercuric bichloride at 10 % (0.02 mL). The distillation method in steam stripping equipment Pennington (1952) was used.

The pH was determined with a pH digital meter (WPA, English manufacturing CD-70 serie) before subjecting the sample to centrifugation.

*Hematological indicators.* To measure the hematocrit, the blood filled of capillaries for micro-hematocrit was performed to a third part. These were sealed with a burner and centrifuged for 10 minutes at 3 500 r.p.m. Subsequently, the reading was performed in a Hawkey micro-hematocrit equipment, manufactured in England with a mobile scale reader that allowed it to be placed in the level of the hematic sediments. The reading was then proceeded.

To measure hemoglobin, the cyanometahemoglobin method described by Crosby *et al.* (1954) was used. 0.2 mL of diluted blood was taken with 5 mL of Drabkin reagent, and after 10 minutes was read at 540 nm.

granja ICA, ubicada en la provincia Mayabeque, Cuba.

El proceso de germinación se llevó a cabo en el departamento de Pastos y Forrajes del Instituto de Ciencia Animal. Se utilizaron intervalos de iluminación de 12 h luz e igual cantidad de oscuridad durante 96 h, según lo descrito por Díaz *et al.* (2004).

Ambos granos, germinados y sin germinar, se secaron en estufa a 60 °C durante 48 h. Luego se molieron en molino de martillo para obtener la harina. Se conservaron en sacos hasta el momento de su utilización.

*Procedimiento experimental.* El experimento se realizó en las instalaciones del Instituto de Ciencia Animal.

A los 42 d, los animales se pesaron y se sacrificaron individualmente dos horas y treinta minutos después de la ingestión de alimento por el método de desangrado de la vena yugular descrito por Sánchez (1990). Posteriormente, se abrió la cavidad abdominal y se extrajeron los órganos accesorios (hígado y páncreas) e inmunológicos (bolsa y bazo) y el tubo digestivo. Este último se dividió para su análisis en buche, proventrículo, molleja, intestino delgado (duodeno, yeyuno, íleon), ciegos y porción final (colon y recto).

Los órganos digestivos se pesaron llenos y vacíos (se eliminó el contenido digestivo desplazando los dedos índice y pulgar para vaciarlos) en una balanza técnica marca SARTORIUS.

A las canales después de eviscerarse, se les separó la piel y las plumas. Se pesó el corazón y el contenido de grasa. Posteriormente, se realizaron los cortes primarios (piernas y pechuga). Para el análisis estadístico, los pesos se expresaron como relativos al peso vivo (PV).

*Indicadores fermentativos cecales.* Las determinaciones de ácidos grasos de cadena corta totales (AGCC totales) se realizaron en diluciones apropiadas, después de centrifugar a 3 000 r.p.m. un gramo de contenido cecal en dilución 1:10 con agua destilada, y luego de descartar el precipitado (Ly *et al.* 1980). La fermentación de la muestra se detuvo mediante la adición de bicloruro de mercurio al 10 % (0.02 mL). Se utilizó el método de destilación en equipo de arrastre con vapor Pennington (1952).

El pH se determinó con un pHmetro digital (marca WPA, serie CD-70 de manufactura inglesa) antes de someter la muestra a centrifugación.

*Indicadores hematológicos.* Para medir el hematocrito se realizó el llenado de sangre de los capilares para microhematocrito hasta una tercera parte. Estos se sellaron con un mechero y se centrifugaron durante 10 min. a 3 500 r.p.m. Posteriormente, se realizó la lectura en un equipo de microhematocrito marca Hawkey, de manufactura inglesa con un lector de escala móvil que permitió situarlo en el nivel de los sedimentos hemáticos. Se procedió entonces a la lectura.

Para medir la hemoglobina se utilizó el método de la cyanometahemoglobina descrito por Crosby *et al.* (1954). Se tomaron 0.2 mL de sangre diluida con 5 mL del reactivo de Drabkin, y después de 10 min. se leyó a

Distilled water was used as control.

*Statistical methods.* To the 27 morphometric measures related to the weights of the different sections, full and empty, as well as the digesta contents, Pearson correlation were performed and later, multivariate analysis using the principal components method. The SPSS statistical system on Windows XP, version 15.0.1 (IBM Corporation 2006) was used.

For the rest of the indicators, a completely randomized design with three treatments was used, which consisted on experimental diets and ten repetitions of one animal. For the analysis of the results, the computerized statistical package INFOSTAT (Di Rienzo *et al.* 2012) was used. The mean values were compared by the Duncan test (1955) in necessary cases.

### Results and Discussion

There was correlation between the 27 variables of the morphometric indicators under study. Eight of them explained the measures related to the weights of the different sections, full and empty, as well as the digesta content, with eigen values higher than 1. The contribution of these variables to the system was 82 % of the accumulated variance. Table 2 shows the weight coefficients: empty tract, pancreas and full caecuma, colon, proventriculus, digesta in the gastrointestinal tract (GIT), caecum lengths, digesta in the small intestine, liver and colon length.

In the empty tract there was a high contribution of the weight variables of GIT, gizzard and small intestine. This performance was to be expected, since according to Mateos *et al.* (2006), the TGI of birds is flexible anatomically and physiologically, allowing them to adapt better to different food circumstances. This group of researchers also suggested that during the transit by the GIT, the fiber swells to a variable degree, increasing the voluminosity and chyme weight, aspects observed in previous researchers with raw and germinated soybean grain (Martínez *et al.* 2013). Therefore, it is possible to expect a higher size of the GIT in birds which intake raw and germinated mucuna, as well as that the effect varies according to the characteristics of this fiber, since its main effect can be related to phenomena of mere physical distension.

The birds fit the enzymes release and modify the transit speed of the digestive content to maximize food digestion and nutrient absorption (Mateos *et al.* 2002), which may induce higher function of the small intestine to degrade fibrous food. In this organ, the biliary secretions flow from the liver, the gallbladder and the pancreas, which secrete the pancreatic juice. In addition, in the walls of the intestinal mucosa there are other tubular glands, possibly homologous to those of Brünner of mammals, which secrete mucus, and those of Lieberkühn, which secrete intestinal juice (Denbow 2000). In the presence of the food, the enzymatic

540 nm. Se utilizó agua destilada como blanco.

*Métodos estadísticos.* A las 27 medidas morfométricas relacionadas con los pesos de las diferentes secciones, llenas y vacías, así como al contenido de digesta, se les realizó correlación de Pearson y posteriormente, análisis multivariado por el método de componentes principales. Se utilizó el sistema estadístico SPSS sobre Windows XP, versión 15.0.1 (IBM Corporation 2006).

Para el resto de los indicadores, se utilizó diseño completamente aleatorizado con tres tratamientos, que consistieron en las dietas experimentales y diez repeticiones de un animal. Para el análisis de los resultados, se utilizó el paquete estadístico computarizado INFOSTAT (Di Rienzo *et al.* 2012). En los casos necesarios, los valores medios se compararon mediante la dócima de Duncan (1955).

### Resultados y Discusión

Existió correlación entre las 27 variables de los indicadores morfométricos en estudio. De ellas, ocho explicaron las medidas relacionadas con los pesos de las diferentes secciones llenas y vacías, así como el contenido de digesta, con valores propios mayores que 1. La contribución de estas variables al sistema fue de 82 % de la varianza acumulada. En la tabla 2 se muestran los coeficientes de peso: tracto vacío, páncreas y ciegos llenos, colon, proventrículo, digesta en el tracto gastrointestinal (TGI), longitudes del ciego, digesta en intestino delgado, hígado y longitud colon.

En el tracto vacío hubo alta contribución de las variables peso del TGI, molleja e intestino delgado. Este comportamiento era de esperarse, ya que según Mateos *et al.* (2006), el TGI de las aves es flexible anatómica y fisiológicamente, lo que les permite adaptarse mejor a diversas circunstancias alimentarias. Este grupo de investigadores plantearon además que durante el tránsito por el TGI, la fibra se hincha en grado variable, incrementa la voluminosidad y el peso del quimo, aspectos observados en investigaciones anteriores con grano de soya cruda y germinada (Martínez *et al.* 2013). Por lo tanto, cabe esperar mayor tamaño del TGI en aves que consumen mucuna cruda y germinada, así como que el efecto varíe en función de las características de esta fibra, ya que su principal efecto puede estar relacionado con fenómenos de mera distensión física.

Las aves ajustan la liberación de enzimas y modifican la velocidad de tránsito del contenido digestivo para maximizar la digestión de los alimentos y la absorción de los nutrientes (Mateos *et al.* 2002), lo que pudiera inducir mayor función del intestino delgado para degradar el alimento fibroso. En este órgano desembocan las secreciones biliares provenientes del hígado, la vesícula biliar y el páncreas, que segrega el jugo pancreático. Además, en las paredes de la mucosa intestinal existen otras glándulas tubulares, posiblemente homólogas a las de Brünner de los mamíferos, que segregan mucus, y las de Lieberkühn, que segregan jugo intestinal (Denbow

Table 2. Matrix of rotated components of the morphometric indicators of broilers which intake germinated and non-germinated grain meal of *Mucuna pruriens*

Components	Variables									
	Empty tract	Pancreas and empty caecuma	Proventriculus	Colon	Digesta in GIT	Caecum lengths	Digesta in small intestine	Liver and colon lenght		
Full GIT	0.20	0.10	0.17	0.12	0.89	0.10	-0.05	0.05		
Empty GIT	0.91	0.07	0.16	0.09	-0.15	0.06	-0.16	0.24		
GIT digesta	-0.30	0.05	0.07	0.06	0.90	0.06	0.04	-0.09		
Full proventriculus	0.14	0.04	0.95	-0.08	0.08	-0.04	0.12	0.05		
Empty proventriculus	0.30	0.10	0.80	0.09	0.03	0.00	0.23	0.11		
Proventriculus	-0.10	-0.05	0.81	-0.26	0.11	-0.08	-0.05	-0.04		
Full gizzard	0.82	0.05	0.14	0.08	0.35	-0.07	0.16	-0.14		
Empty gizzard	0.71	0.15	0.11	0.01	0.03	-0.27	-0.38	-0.15		
Full small intestine	0.25	-0.03	0.14	-0.09	-0.18	-0.19	0.85	-0.02		
Empty small intestine	0.75	0.07	0.03	-0.05	-0.30	-0.04	0.12	0.06		
Small intestine digesta	-0.28	-0.08	0.13	-0.06	0.02	-0.18	0.84	-0.07		
Full caecum	0.23	0.89	0.06	0.02	0.02	0.31	-0.03	0.08		
Caecum digesta	0.13	0.84	-0.16	-0.11	0.28	0.22	0.06	-0.01		
Full colon	0.04	0.05	-0.08	0.97	0.06	-0.06	-0.08	-0.03		
Empty colon	0.18	-0.11	-0.07	0.85	0.05	-0.04	-0.17	-0.30		
Colon+rectum digesta	-0.13	0.21	-0.06	0.76	0.06	-0.07	0.05	0.29		
Liver	0.17	-0.15	0.16	0.15	-0.13	0.11	-0.06	0.81		
Pancreas	0.18	-0.70	-0.06	-0.19	0.02	0.01	0.33	0.12		
Right caecum lenght	-0.13	0.33	-0.05	-0.04	0.03	0.84	-0.13	-0.02		
Left caecum lenght	-0.15	0.17	0.10	-0.14	-0.07	0.87	-0.13	0.16		
Colon lenght	0.18	-0.33	0.08	0.43	-0.06	-0.04	-0.07	-0.74		
Total	4.914	4.304	3.514	2.796	2.169	1.747	1.442	1.343		
% Variance	18.200	15.940	13.016	10.354	8.033	6.471	5.342	4.973		
% Accumulated	18.200	34.140	47.156	57.510	65.543	72.015	77.357	82.330		

secretion of each of them is activated to carry out the digestive process, which allows establishing a high correlation between the weight of the small intestine full and the digesta in this section, when using the *Mucuna* grain, non-germinated and germinated.

The portion colon + rectum is of small length and the food passage time is short, so it must be very efficient in the nutrients absorption (Alvarez *et al.* 2014). Perhaps,

2000). Ante la presencia del alimento, se activa la secreción enzimática de cada una de ellas para llevar a cabo el proceso digestivo, lo que permite establecer una alta correlación entre el peso del intestino delgado lleno y la digesta en esta sección, al utilizar el grano de *Mucuna*, sin germinar y germinado.

La porción colon + recto es de pequeña longitud y el tiempo de paso de los alimentos es breve, por lo que debe

for this reason, there is a close relation between the weights of the section full and empty and digesta, by including the germinated mucuna as raw in the diet of broilers.

High coefficients in the weight of the full caeca and in their digesta contents were observed, as well as in the length of the right and left (table 2). Duke (1997) stated that the bird, in order to increase its fermentative capacity against a coarse feed, can increase the size and length of its organs and, in particular, of the caecum.

In the germinated and non-germinated grain of mucuna, Cantera (2011) found high apparent density, which is positively related to the occupied volume. Hence, this performance could be due to the physiological adaptation of the bird, due to the increase of the permanence time of the food in this organ so that it increases the digestive capacity, microbial mass and fermentation end products. This was reported by Eastwood (1992) and Carew *et al.* (2003).

There were no differences between treatments and between control and grain meal of germinated mucuna, while both differed from non-germinated legume, where total SCFA were lower (table 3). In general, it is considered that the caeca inside the digestive tract of the birds constitute the fundamental site where the fiber digestion occurs, due to the great fermentative activity that they have (Savón 2002) by the bacteria presence (Apajalahti and Kettunen 2002) and cellulolytic fungi (Rodríguez *et al.* 1996), which show an adaptive response to the values of the diet fraction (Varel *et al.* 1984). It is very probable that the non-germinate grains have effect on the populations of these microorganisms, so that the production of these compounds at the cecal level decreases.

There were not differences for the immunological organs (table 4). It seems that the levels of anti-nutritional factors which contributes the germinated and non-germinated legume do not cause damage to animal health, although Aguilera *et al.* (2013) reported that the process improves the values of enzymes inhibitors and inositol-phosphates and increases the phenolic compounds and the antioxidant activity.

According to Giambrone (1996), when the ratio between the weights of the Bursa of Fabricius and the live weight of the animal, is higher than unit, the birds are not immunodepressed. This is in correspondence with what was found in the analysis of blood indicators (table 5) and the main components of the carcass and live weight (table 6), since differences between treatments were not observed. Therefore, it can be inferred that the intake of mucuna grain, germinated and non-germinated, does not cause immunological damage and promotes good body weight and body composition in animals.

From the obtained results, it is concluded that when feeding diets to the birds with germinated and

ser muy eficiente en la absorción de nutrientes (Álvarez *et al.* 2014). Quizás, por esta razón, existe estrecha relación entre los pesos de la sección llena, vacía y la digesta, al incluir la mucuna germinada como cruda en la dieta de los pollos de ceba.

Se observaron altos coeficientes en el peso de los ciegos llenos y en su contenido de digesta, así como en la longitud del derecho y el izquierdo (tabla 2). Duke (1997) planteó que el ave, en función de aumentar su capacidad fermentativa ante un alimento voluminoso, puede aumentar la talla y longitud de sus órganos y, en particular, de los ciegos. En el grano de mucuna germinado y sin germinar, Cantera (2011) encontró alta densidad aparente, que se relaciona positivamente con el volumen ocupado. De ahí que este comportamiento se pudiera deber a la adaptación fisiológica del ave, debido al aumento del tiempo de permanencia del alimento en este órgano para que incremente la capacidad digestiva, masa microbiana y productos finales de la fermentación. Esto fue informado por Eastwood (1992) y Carew *et al.* (2003).

No hubo diferencias entre tratamientos y entre el control y la harina de granos de mucuna germinada, en tanto que ambos difirieron de la leguminosa sin germinar, donde los AGCC totales fueron inferiores (tabla 3). En general, se considera que los ciegos dentro del tubo digestivo de las aves constituyen el sitio fundamental donde ocurre la digestión de la fibra, debido a la gran actividad fermentativa que poseen (Savón 2002) por la presencia de bacterias (Apajalahti y Kettunen 2002) y hongos celulolíticos (Rodríguez *et al.* 1996), que muestran respuesta adaptativa a los valores de la fracción de la dieta (Varel *et al.* 1984). Es muy probable que los granos sin germinar tengan efecto en las poblaciones de estos microorganismos, de manera que disminuya la producción de estos compuestos a nivel cecal.

No se observaron diferencias para los órganos inmunológicos (tabla 4). Al parecer, los niveles de factores antinutricionales que aporta la leguminosa germinada y sin germinar, no provocan daños en la salud de los animales, a pesar de que Aguilera *et al.* (2013) informó que el proceso mejora los valores de inhibidores de enzimas e inositolesfosfatos y aumenta las compuestos fenólicos y la actividad antioxidante.

Según Giambrone (1996), cuando la relación entre el peso de la bolsa de Fabricio y el peso vivo del animal, es mayor que la unidad, las aves no están inmunodeprimidas. Esto está en correspondencia con lo encontrado en el análisis de los indicadores sanguíneos (tabla 5) y los principales componentes de las canales y peso vivo (tabla 6), ya que no se observaron diferencias entre tratamientos. Por ello, se puede inferir que el consumo del grano de mucuna, sin germinar como germinado, no causa daños inmunológicos y promueve buen peso vivo y composición corporal en los animales.

A partir de los resultados obtenidos, se concluye que

non-germinated mucuna grain, the gastrointestinal tract weight was modified and the production of total caecal SCFA increased, in order to make a more efficient use of the food. It was also verified that the meal of the raw and germinated legume does not affect the health or the body composition of broilers which intake it, when are included at levels of 10 % in the diets.

al suministrar dietas a las aves con granos de mucuna, germinados y sin germinar, se modificó el peso del tracto gastrointestinal y aumentó la producción de AGCC totales cecales, en aras de hacer un uso más eficiente del alimento. Se comprobó además, que la harina de la leguminosa cruda y germinada no afecta la salud ni la composición corporal de los pollos de ceba que la consumen, cuando se incluyen a niveles del 10 % en las dietas.

Table 3. Caecal fermentative indicators in broilers which intake germinated and non-germinated mucuna grain meal in the diet.

Indicator	Control	Non-germinated mucuna grains	Germinated mucuna grains	S.E ±	P-value
pH	6.80	6.70	6.94	0.18	0.64
tSCFA (meq/L)	208.30 <sup>b</sup>	176.44 <sup>a</sup>	211.20 <sup>b</sup>	8.02 **	0.008

<sup>a,b</sup>Different letters within the same row significantly differ (P<0.05) (Duncan 1955). \*\*P<0.01

Table 4. Effect of germinated and non-germinated *Mucuna pruriens* meal on the weight of immunological organs.

Organ (g/kg)	Control	Non-germinated mucuna grains	Germinated mucuna grains	S.E ±	P-value
Spleen	1.60	1.81	1.86	0.19	0.62
Bursa of Fabricius	2.71	2.43	2.26	0.33	0.62

Table 5. Hematological indicators in broilers which intake germinated and non-germinated mucuna grain meal in the ration.

Indicator	Control	Non-germinated mucuna grains	Germinated mucuna grains	S.E ±	P-value
Hb (g/dL)	10.41	10.04	10.46	0.47	0.46
Ho (%)	31.70	30.20	31.41	1.47	0.39

Table 6. Body composition in broilers which intake germinated and non-germinated *Mucuna pruriens* grain meal in the diet at 42 days

Indicators (g/kg LW)	Control	Non-germinated mucuna grains	Germinated mucuna grains	S.E ±	P-value
LW (kg)	2.09	2.15	2.07	0.04	0.28
Right carcass	243.40	238.69	248.26	4.39	0.32
Left carcass	250.72	253.16	250.19	5.64	0.92
Crop	138.97	146.28	144.35	3.24	0.27
Right leg	123.67	117.10	122.98	2.49	0.14
Left leg	125.74	125.02	122.24	2.86	0.66
Heart	5.87	6.49	5.81	0.22	0.06
Abdominal fat	13.57	12.55	12.20	2.52	0.92

## References

- Aguilera, Y., Díaz, M. F., Jiménez, T., Benítez, V., Herrera, T., Cuadrado, C., Martín-Pedrosa, M. & Martín-Cabrejas, M. A. 2013. "Changes in Nonnutritional Factors and Antioxidant Activity during Germination of Nonconventional Legumes". *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(34): 8120–8125, ISSN: 0021-8561, 1520-5118, DOI: 10.1021/jf4022652.
- Álvarez, D. C. A., Pérez, E. H. & Quincosa, T. J. 2014. *Fisiología animal básica*. 2nd ed., La Habana, Cuba: Félix Varela, ISBN: 978-959-07-1948-6.
- Apajalahti, J. & Kettunen, A. 2002. "Efecto de la dieta sobre la flora microbiana en el tracto gastrointestinal de aves". In:

- Rebollar, P. G., Blas, C. de & Mateos, G. G. (eds.), XVIII Curso de especialización FEDNA: avances en nutrición y alimentación animal, Barcelona, España: Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal, p. 204, Available: <<http://www.acorex.es/EN/pienso/Efectodeladietasobrelafloramicrobianaeneltractogastrointestinaldeaves.pdf>>, [Consulted: September 29, 2016].
- Benitez, V., Cantera, S., Aguilera, Y., Mollá, E., Esteban, R. M., Díaz, M. F. & Martín-Cabrejas, M. A. 2013. "Impact of germination on starch, dietary fiber and physicochemical properties in non-conventional legumes". *Food Research International*, 50(1): 64–69, ISSN: 0963-9969, DOI: 10.1016/j.foodres.2012.09.044.
- Brand, T. S., Brandt, D. A. & Cruywagen, C. W. 2004. "Chemical composition, true metabolisable energy content and amino acid availability of grain legumes for poultry". *South African Journal of Animal Science*, 34(2): 116–122, ISSN: 2221-4062, 0375-1589, DOI: 10.4314/sajas.v34i2.3815.
- Cantera, S. 2011. Influencia del proceso de germinación sobre los carbohidratos y propiedades tecnofuncionales en leguminosas no convencionales. Graduated Thesis, Universidad Autónoma de Madrid, España, 35 p.
- Carbonaro, M., Maselli, P. & Nucara, A. 2015. "Structural aspects of legume proteins and nutraceutical properties". *Food Research International*, 76: 19–30, ISSN: 0963-9969, DOI: 10.1016/j.foodres.2014.11.007.
- Carew, L. B., Hardy, D., Weis, J., Alster, F., Mischler, S. A., Gernat, A. & Zakrzewska, E. I. 2003. "Heating raw velvet beans (*Mucuna pruriens*) reverses some anti-nutritional effects on organ growth, blood chemistry, and organ histology in growing chickens". *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 1(2–3): 267–275, ISSN: 1870-0462.
- Crosby, W. H., Munn, J. I. & Furth, F. W. 1954. "Standardizing a method for clinical hemoglobinometry". *United States Armed Forces Medical Journal*, 5(5): 693–703, ISSN: 0566-0777.
- Denbow, D. M. 2000. "Gastrointestinal Anatomy and Physiology". In: Causey, W. G. (ed.), *Sturkie's Avian Physiology*, 5th ed., San Diego: Academic Press, pp. 299–325, ISBN: 978-0-12-747605-6, Available: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780127476056500134>>, [Consulted: September 29, 2016].
- Di Rienzo, J. A., Casanoves, F., Balzarini, M. G., González, L., Tablada, M. & Robledo, C. W. 2012. InfoStat. version 2012, [Windows], Universidad Nacional de Córdoba, Argentina: Grupo InfoStat, Available: <<http://www.infostat.com.ar/>>.
- Díaz, M. F., Martín-Cabrejas, M. Á., Coto, G., González, A., Torres, V. & Noda, A. 2009. "Germinados de Leguminosa. Una opción para la producción animal en Cuba". *Revista ACPA*, 2: 54, ISSN: 0138-6247.
- Díaz, M. F., Torres, V., González, A. & Noda, A. 2004. "Biotransformations in the germination of *Vigna unguiculata*". *Cuban Journal of Agricultural Science*, 38(1): 87–92, ISSN: 2079-3480.
- Duke, G. E. 1997. "Gastrointestinal physiology and nutrition in wild birds". *Proceedings of the Nutrition Society*, 56(3): 1049–1056, ISSN: 0029-6651, 1475-2719, DOI: 10.1079/PNS19970109.
- Duncan, D. B. 1955. "Multiple Range and Multiple F Tests". *Biometrics*, 11(1): 1–42, ISSN: 0006-341X, DOI: 10.2307/3001478.
- Eastwood, M. A. 1992. "The Physiological Effect of Dietary Fiber: An Update". *Annual Review of Nutrition*, 12(1): 19–35, ISSN: 0199-9885, 1545-4312, DOI: 10.1146/annurev.nu.12.070192.000315.
- Elizalde, A. D. D., Porrilla, Y. P. & Chaparro, D. C. C. 2009. "Factores antinutricionales en semillas". *Biología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 7(1): 45–54, ISSN: 1692-3561.
- Giambrone, J. J. 1996. "Inmunosupresión en las aves: causas y prevención". *Avicultura Profesional*, 14(5): 42–47, ISSN: 0736-2056.
- Huang, X., Cai, W. & Xu, B. 2014. "Kinetic changes of nutrients and antioxidant capacities of germinated soybean (*Glycine max* L.) and mung bean (*Vigna radiata* L.) with germination time". *Food Chemistry*, 143: 268–276, ISSN: 0308-8146, DOI: 10.1016/j.foodchem.2013.07.080.
- IBM Corporation 2006. IBM SPSS Statistics. version 15.0.1, [Windows], Multiplataforma, U.S: IBM Corporation, Available: <<http://www.ibm.com>>.
- Ly, J., Domínguez, L. & Grau, A. 1980. "Miel final y desperdicios procesados en la ceba de cerdos. 1. Niveles de AGV en dietas y contenido digestivo". *Ciencia y Técnica en la Agricultura. Ganado Porcino*, 3: 89, ISSN: 0138-8738.
- Martínez, M., Díaz, M. F., Hernández, Y., Sarmiento, M. & Sierra, F. 2013. "Sustitución de pasta de soya comercial (Glycinemax) por harina de frijol de soya germinada y sin germinar en dietas de pollos de engorde". *Livestock Research for Rural Development*, 25(7), ISSN: 0121-3784, Available: <<http://www.lrrd.cipav.org.co/lrrd25/7/mart25120.htm>>, [Consulted: September 29, 2016].
- Mateos, G. G., Lázaro, R. Y., González, J. M., Jiménez, E. & Vicente, B. 2006. "Efectos de la fibra dietética en piensos de iniciación para pollitos y lechones". In: XXII Curso de Especialización FEDNA, Barcelona, España: Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal, p. 39.
- Mateos, G. G., Lázaro, R. Y. & Gracia, M. I. 2002. "Modificaciones nutricionales y problemática digestiva en aves". In: Rebollar, P. G., Blas, C. de & Mateos, G. G. (eds.), XVIII Curso de especialización FEDNA: avances en nutrición y alimentación animal, Barcelona, España: Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal, p. 204, Available: <<http://www.acorex.es/EN/pienso/Efectodeladietasobrelafloramicrobianaeneltractogastrointestinaldeaves.pdf>>, [Consulted: September 29, 2016].
- NRC, (National Research Council) 1994. *Nutrient Requirements of Poultry*. 9th ed., Washington, D.C.: National Academies Press, ISBN: 978-0-309-04892-7, Available: <<http://www.nap.edu/catalog/2114>>, [Consulted: September 29, 2016].
- Pennington, R. J. 1952. "The metabolism of short-chain fatty acids in the sheep. 1. Fatty acid utilization and ketone body production by rumen epithelium and other tissues". *Biochemical Journal*, 51(2): 251–258, ISSN: 0264-6021.
- Rodríguez, Z., Galindo, J., Marrero, A. I., Boucourt, R., Elías, A. & Riverí, Z. 1996. "A note on the isolation of anaerobic cellulolytic fungi in the caecum of broilers". *Cuban Journal of Agricultural Science*, 30(3): 201–202, ISSN: 2079-3480.
- Sánchez, A. 1990. *Enfermedades de las aves*. La Habana, Cuba: ENPES, 285 p.

- Sarmiento, T. R. 2012. Impacto del procesamiento sobre la pared celular y las propiedades hipoglucémicas y tecnofuncionales de leguminosas. PhD Thesis, Universidad Autónoma de Madrid, Madrid, España, 269 p.
- Savón, L. 2002. "High fibrous feed for monogastric. Characterization of the fibrous matrix and its effects on the digestive physiology". Cuban Journal of Agricultural Science, 36(2): 91–102, ISSN: 2079-3480.
- Varel, V. H., Pond, W. G. & Yen, J. T. 1984. "Influence of Dietary Fiber on the Performance and Cellulase Activity of Growing-Finishing Swine". Journal of Animal Science, 59(2): 388, ISSN: 0021-8812, DOI: 10.2527/jas1984.592388x.

**Received: August 1, 2016**