

01682



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

**DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO
E INVESTIGACION DE LA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**

**EFFECTO DEL CLENBUTEROL SOBRE LA
COMPOSICION CORPORAL Y LOS
PARAMETROS PRODUCTIVOS DEL
POLLO DE ENGORDA**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
DOCTOR EN CIENCIAS VETERINARIAS
(ALIM. Y NOTR. ANI)
P R E S E N T A :

OSCAR E. ALPIZAR SALAS



**ASESORES: DR. FERNANDO OEREZ-GIL R. (DIRECTOR)
DR. ERNESTO AVILA GONZALEZ
DRA. VICTORIA VALLES SANCHEZ
DR. CARLOS LOPEZ COELLO
DR. LUIS OCAMPO CAMBERROS**

MEXICO D. F.

NOVIEMBRE

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

1993

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

DATOS BIOGRAFICOS

El autor nació en San Ramón, Alajuela, Costa Rica, Centro América, el 19 de mayo de 1956. Realizó sus estudios de bachillerato en el Liceo "Julián Volio LLorente" en la ciudad de San Ramón. El grado de Licenciatura le fue otorgado en 1979 por la Facultad de Ciencias Agrárias do Pará Brasil, con el grado de Médico Veterinario.

En 1980 presentó el examen de incorporación para ingresar al Colegio de Médicos Veterinários de Costa Rica. De 1980 a 1981 trabajó para el Centro Agrícola Cantonal de Sarchí. Desde 1982 hasta la fecha es funcionario del Ministerio de Agricultura y Ganadería de Costa Rica. También ha participado como miembro de la Junta Administrativa del Hospital de San Ramón, Alajuela y directivo de la Asociación Nacional de Profesionales del Ministerio de Agricultura y Ganadería de Costa Rica, Centro América.

En 1990 obtuvo el grado de Maestro en Producción Animal: Área de Alimentación y Nutrición Animal, en la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la U.N.A.M. En esta misma Facultad en 1990 continuó con sus estudios de Doctorado en Ciencias Veterinarias.

RESUMEN

Se realizaron cuatro experimentos, con el objetivo de estudiar el efecto de un agonista β -adrenérgico (clenbuterol), como aditivo en la dieta tipo práctico sorgo + soya para pollos de engorda en etapa de finalización sobre el comportamiento productivo, grasa abdominal, calidad de la canal e hipertrófia muscular. En el experimento I, pollos de engorda sexados hembras y machos de una línea comercial de los 28 a los 48 días de edad, se alimentaron con distintos niveles de clenbuterol (0.0, 0.5, 1.0, 1.5 y 2.0 ppm). Los resultados obtenidos indicaron diferencias ($P < 0.05$) en el peso corporal entre sexos, siendo más pesados los machos. Para el contenido de grasa abdominal, se encontró una disminución ($P < 0.05$), con la adición de 1 ppm de clenbuterol tanto en machos como en hembras. En un segundo experimento, pollos (machos y hembras) de 21 a 48 días de edad, se alimentaron con dietas suplementadas con 0 y 1 ppm de clenbuterol. Los datos obtenidos para aumento de peso y conversión alimenticia fueron superiores ($P < 0.05$) en los machos. La suplementación de clenbuterol aumentó ($P < 0.05$) la síntesis de proteína medida con fenilalanina radiactiva, esto se refleja en un aumento significativo del contenido proteico de la canal. En el experimento III, se evaluó el contenido de ácidos grasos en suero de aves alimentadas con 0 y 1 ppm de clenbuterol de los 21 a

los 48 días de edad; así como cuanta glucosa marcada en el C^{14} se instaló en los triglicéridos del cuerpo de los pollos. Los resultados indicaron ($P < 0.05$) menor contenido de grasa abdominal en las aves alimentadas con clenbuterol; así como menor contenido de ácidos grasos (mayor lipólisis) y menos incorporación de glucosa en triglicéridos (menos lipogénesis). Finalmente en el Experimento IV, se analizó en pollos alimentados de 21 a 48 días de edad con 0 y 1 ppm de clenbuterol; el rendimiento en pechuga, muslos y piernas; además de la hipertrofia muscular. Los datos obtenidos indicaron un mayor rendimiento con clenbuterol en pechugas y piernas, debido a un mayor ($P < 0.05$) diámetro de los fascículos, diámetro de las fibras musculares y el aumento en el número de miofilamentos por miofibrilla. De los resultados, obtenidos se puede inferir que el clenbuterol a 1 ppm de clenbuterol como aditivo en dietas para pollos en finalización, aumenta en la canal la masa muscular, incrementando del contenido de proteína (mayor síntesis proteica) y reduce la deposición de tejido graso.

INDICE

Página

INTRODUCCION.....	1
A. Presentación del problema.....	1
B. Antecedentes.....	3
a. Definición de los agonistas beta-adre- néricos (ABA) y su mecanismo de acción.....	3
b. Uso de los ABA en la producción animal.....	6
c. El clenbuterol en la producción animal.....	8
C. Justificación.....	11
EXPERIMENTO I	
A. Hipótesis.	13
B. Objetivos.	13
C. Material y métodos.....	13
D. Resultados.....	17
E. Discusión.....	20
F. Conclusión.....	22
EXPERIMENTO II	
A. Hipótesis.	24
B. Objetivos.	24
C. Material y métodos.....	24
D. Resultados.....	29

E. Discusión.....	35
F. Conclusión.....	43

EXPERIMENTO III

A. Hipótesis.	46
B. Objetivos.	46
C. Material y métodos.....	46
D. Resultados.....	51
E. Discusión.....	55
F. Conclusión.....	58

EXPERIMENTO IV

A. Hipótesis.	60
B. Objetivos.	60
C. Material y métodos.....	60
D. Resultados.....	63
E. Discusión.....	72
F. Conclusión.....	78
II. LITERATURA CITADA.....	81
III. APENDICE.....	92

LISTA DE CUADROS

No de Cuadro	Página
1- Composición de las dietas empleadas para los periodos de iniciación y finalización.....	15
2- Análisis de varianza para peso corporal, consumo de alimento, conversión alimenticia y grasa abdominal.....	18
3- Peso promedio de los pollos de engorda a 48 días de edad.....	18
4- Consumo de alimento de los pollos de engorda de 28 a 48 días de edad.....	19
5- Conversión alimenticia de los pollos de engorda de 28 a 48 días de edad.....	19
6- Porcentaje de grasa abdominal en los pollos a los 48 días de edad.....	20
7- Análisis de varianza para peso corporal, consumo de alimento y conversión alimenticia	29
8- Peso promedio y consumo de alimento de los pollos de engorda a 48 días de edad.....	30
9- Promedios de conversión alimenticia y síntesis proteica de los pollos de engorda a los 48 días de edad.....	31
10- Análisis de varianza para las mg/g de síntesis proteica, % de proteína y humedad en pollos de engorda a los 48 días de edad.....	32

11- Medias generales sobre el % de proteína y humedad en la canal de pollos de engorda a los 48 días de edad.....	32
12- Análisis de varianza para los mg de calcio y fósforo por 100g, así como el porcentaje de cenizas, en la canal de las aves a los 48 días de edad.....	33
13- Medias generales sobre los resultados de calcio y fósforo (mg/100g) evaluados en la canal de pollos de engorda a los 48 días de edad.....	34
14- Medias generales sobre el porcentaje de cenizas en la canal de pollos de engorda a los 48 días de edad.....	34
15- Análisis de varianza para grasa abdominal, % de extracto etéreo, lipólisis y lipogénesis en pollos de engorda a los 48 días de edad.....	52
16- Medias generales sobre el porcentaje de grasa abdominal y extracto etereo en la canal de pollos de engorda a los 48 días de edad.....	53
17- Medias generales sobre la lipólisis y lipogénesis en pollos de engorda a los 48 días de edad.....	54
18- Análisis de varianza para peso porcentual de pechuga, muslo y pierna en pollos de engorda a los 48 días de edad.....	63
19- Medias generales para el peso porcentual de las pechugas y muslos en los pollos de engorda a los 48 días de edad.....	64

20- Medias generales para el peso porcentual de las pechuga y el diámetro (μ) de los fascículos en los pollos de engorda a los 48 días de edad.....	65
21- Análisis de varianza del diámetro de los fascículos evaluados en pechuga, muslos y piernas de las aves a los 48 días de edad.....	66
22- Medias generales sobre el diámetro (μ) de los fascículos de las piernas y de los muslos de las aves a los 48 días de edad.....	67
23- Análisis de varianza del diámetro (μ) de las células evaluadas en pechuga, muslo y piernas de las aves a los 48 días de edad.....	68
24- Medias generales sobre el diámetro de las células de las pechugas y de los muslos en pollos de engorda a los 48 días de edad.....	68
25- Medias generales sobre el diámetro (μ) de las células de las piernas y el número de miofilamentos por miofibrilla en pechugas de pollos de engorda a los 48 días de edad.....	69
26- Análisis de varianza para el número de miofilamentos por miofibrilla en pechugas, muslos y piernas en pollos de engorda a los 48 días de edad.....	70
27 Medias generales sobre el número de miofilamentos por miofibrilla en muslos y piernas en pollos de engorda a los 48 días de edad.....	71

LISTA DE GRAFICAS

No de gráfica	Página
1. Consumo de alimento de aves no tratadas y tratadas con clenbuterol a 1 ppm de 22 a 48 días de edad.....	30-2
2. Porcentaje de grasa abdominal en pollos de engorda tratados y no tratados con clenbuterol de 22 a 48 días de edad.....	53-2
3. Efecto de lipólisis en pollos de engorda que fueron suplementados con clenbuterol de 22 a 48 días de edad.....	54-2
4. Rendimiento en pechugas de pollos de engorda que consumieron clenbuterol con el alimento de 22 a 48 días de edad.....	64-2
5. Diámetro obtenido en las células evaluadas en pechuga de pollos de engorda de 22 a 48 días de edad.....	68-2
6. Número de miofilamentos por miofibrilla en pechugas de pollos de engorda suplementados con clenbuterol de 22 a 48 días de edad.....	71-2

RESUMEN

Se realizaron cuatro experimentos, con el objetivo de estudiar el efecto de un agonista β -adrenérgico (clenbuterol), como aditivo en la dieta tipo práctico sorgo + soya para pollos de engorda en etapa de finalización sobre el comportamiento productivo, grasa abdominal, calidad de la canal e hipertrófia muscular. En el experimento I, pollos de engorda sexados hembras y machos de una línea comercial de los 28 a los 48 días de edad, se alimentaron con distintos niveles de clenbuterol (0.0, 0.5, 1.0, 1.5 y 2.0 ppm). Los resultados obtenidos indicaron diferencias ($P < 0.05$) en el peso corporal entre sexos, siendo más pesados los machos. Para el contenido de grasa abdominal, se encontró una disminución ($P < 0.05$), con la adición de 1 ppm de clenbuterol tanto en machos como en hembras. En un segundo experimento, pollos (machos y hembras) de 21 a 48 días de edad, se alimentaron con dietas suplementadas con 0 y 1 ppm de clenbuterol. Los datos obtenidos para aumento de peso y conversión alimenticia fueron superiores ($P < 0.05$) en los machos. La suplementación de clenbuterol aumentó ($P < 0.05$) la síntesis de proteína medida con fenilalanina radiactiva, esto se refleja en un aumento significativo del contenido proteico de la canal. En el experimento III, se evaluó el contenido de ácidos grasos en suero de aves alimentadas con 0 y 1 ppm de clenbuterol de los 21 a

los 48 días de edad; así como cuanta glucosa marcada en el C^{14} se instaló en los triglicéridos del cuerpo de los pollos. Los resultados indicaron ($P < 0.05$) menor contenido de grasa abdominal en las aves alimentadas con clenbuterol; así como menor contenido de ácidos grasos (mayor lipólisis) y menos incorporación de glucosa en triglicéridos (menos lipogénesis). Finalmente en el Experimento IV, se analizó en pollos alimentados de 21 a 48 días de edad con 0 y 1 ppm de clenbuterol; el rendimiento en pechuga, muslos y piernas; además de la hipertrofia muscular. Los datos obtenidos indicaron un mayor rendimiento con clenbuterol en pechugas y piernas, debido a un mayor ($P < 0.05$) diámetro de los fascículos, diámetro de las fibras musculares y el aumento en el número de miofilamentos por miofibrilla. De los resultados obtenidos se puede inferir que el clenbuterol a 1 ppm de clenbuterol como aditivo en dietas para pollos en finalización, aumenta en la canal la masa muscular, incrementando del contenido de proteína (mayor síntesis proteica) y reduce la deposición de tejido graso.

EFECTO DEL CLENBUTEROL SOBRE LA COMPOSICION CORPORAL Y LOS
PARAMETROS PRODUCTIVOS DEL POLLO DE ENGORDA

I- INTRODUCCION

A. PRESENTACION DEL PROBLEMA

En la producción animal se persiguen diferentes metas, pero la de mayor interés es producir carne de manera cada vez más eficiente en cantidades suficientes para cubrir su alta demanda. Existen varios métodos que se utilizan para tratar de lograr este fin; por ejemplo, es sabido que las razas o líneas de pollos de engorda comerciales son híbridas de tres o más líneas con objetivo de obtener la máxima capacidad productiva, con ello oportunidades de mejorar cada vez más los parámetros de producción. Este método y el de seleccionar animales por sus aspectos fenotípicos se utilizan para realizar avances genéticos, de los cuales se han logrado importantes progresos durante las últimas décadas en pollos de engorda: sobre el peso, consumo de alimento y conversión alimenticia; logros que llevan a reducir el tiempo de sacrificio, pero que, lamentablemente, han sido acompañados por una excesiva deposición de grasa.^{16,26,40,43,92}

Otra área en la cual se han obtenido grandes avances es la nutrición, como el hecho de modificar el proceso de crecimiento a través de la aplicación de agentes

anabólicos y antibióticos. Estos agentes mezclados en la dieta de los animales mejoran la eficiencia alimenticia, así como la calidad de la canal.^{43,110} Sin embargo, en el caso de las hormonas, éstas se han dejado de utilizar ya que su aplicación ha generado diferentes problemas; por ejemplo, Lucas et al.⁶¹ detectaron sabores y olores desagradables en la carne de cerdos alimentados con dietas que las contienen. Por otro lado, el depósito de grasa en los animales de consumo es también un problema serio, provocado por estos agentes, que tiene implicaciones en la nutrición humana. Esto se debe a que la gran ingestión de lípidos contenidos en la dieta llega a provocar enfermedades cardio vasculares,^{39,94} entre otras, y por lo tanto se crea una mayor resistencia del público hacia su consumo, a la vez que genera un mayor costo de producción.^{31,32,48}

Desde el punto de vista monetario, dichas implicaciones se deben de tomar en cuenta para analizar la composición del producto, dado que es un factor importante para determinar si el valor de la unidad producida y el costo de producción causan un retorno del producto eficiente por unidad de alimento dado.³²

Los datos planteados, son el motivo por el cual se pretende reducir lo más posible la deposición de tejido adiposo y aumentar la producción de carne magra; si se logra este efecto mejorará la eficiencia productiva, la aceptación y demanda del consumidor.²⁰

Para tratar de alcanzar estos objetivos, recientemente han surgido para su estudio los agonistas beta-adrenérgicos como un posible instrumento a utilizar. Esos compuestos son comúnmente referidos como "agentes repartidores" y se encargan de reducir la síntesis de la grasa y su almacenamiento, a la vez que aumentan el tejido muscular.^{20,24}

Estas características se dan particularmente en drogas como el clenbuterol, un adrenérgico aún poco investigado en cuanto a su aplicación en pollos; pues aunque es sabido que en estos animales aumentan el peso y disminuyen la proporción de grasa, todavía quedan dudas de su efecto en relación con los demás nutrimentos, así como su efecto la determinación del tipo de músculo en que actúa.^{40,93,112}

B. ANTECEDENTES

a. DEFINICION DE LOS AGONISTAS BETA-ADRENERGICOS (ASA) Y SU MECANISMO DE ACCION

Los agonistas beta-adrenérgicos, se definen como sustancias que maximizan un estímulo con una actividad intrínseca; actúan como mediadores biológicos. Son sintetizados químicamente y tienen similar estructura química, así como propiedades de catecolaminas parecidas a las de la adrenalina (hormona secretada por la glándula adrenal) y la noradrenalina (neurotransmisor químico en el sistema nervioso simpático).^{62,105}

Estas hormonas son responsables de un grupo de funciones como: inhibición de insulina, gluconeogénesis, lipogénesis y aumento de la secreción de glucógeno;^{51,62} actividades que pueden ocurrir, por ejemplo, en situaciones de estrés (calor, frío, lucha, bandadas, etc.).⁶²

Se sabe que las catecolaminas son hormonas de emergencia que ocasionan adaptación metabólica inmediata (homeostasis); pero, como ya se ha hecho notar (malos olores en la carne para consumo), las diferentes reacciones secundarias que llegan a generar con su uso las hace poco aplicables y, en consecuencia, la alternativa viable parecen presentarla los A β A, de los que se cree, son potentes reguladores metabólicos.³⁹

Existen dos tipos de receptores adrenérgicos: alfa y beta, y pueden ser subdivididos en uno y dos subgrupos de acuerdo a su función específica.³⁹ En los alfa actúa la adrenalina a dosis altas, mientras que en los beta son de mayor duración a dosis bajas.³⁹ Los receptores beta uno, motivan la estimulación lipolítica y la actividad del músculo cardíaco; los beta dos causan broncodilatación y vasopresión, además de la relajación del músculo liso. Recientemente surgió la idea de un subtipo adicional de receptor beta, localizado en el tejido adiposo, pero aún no existe información clara al respecto.^{40,80,106}

Cuando los A β A se adicionan en el alimento y son ingeridos, regulan el metabolismo de las proteínas y los lípidos;⁶⁹ el efecto es similar por vía oral o parenteral.⁴⁸

Se ha comprobado que ocasionan un nuevo estado de equilibrio fisiológico al repartir los nutrimentos y promover la lipólisis por medio de los receptores beta uno y beta dos; de esta manera, a través de la activación de la adenil ciclasa, aumentan la secreción de adenosina 3,5 monofosfatol AMP "cíclico," que es hidrolizado por una fosfodiesterasa para reducirse hasta 5 AMP simple. Se cree que los β A regulan el metabolismo a través de aumentos en los niveles de AMP cíclico en forma similar a la adrenalina.^{109,113}

Stiles et al.¹⁰⁵ describieron el mecanismo natural que se da en el organismo para la regulación de adenil ciclasa: el efecto intracelular del AMP cíclico es la activación de una proteinasa, la cual posteriormente activa a nivel de la célula adiposa la lipasa de triglicéridos y finalmente, los ácidos grasos son liberados.¹⁰⁵ Este mecanismo es inhibido por la insulina.¹⁰⁰ Al respecto, Orcutt et al.⁸³ afirman que los β A disminuyen la sencibilidad de los adipocitos a la insulina en el ratón; esto crea la duda de si son igualmente efectivos en las diferentes especies - como por ejemplo el cerdo, que tiene una baja sencibilidad a la insulina.

Deerman et al.,⁵ a su vez, fundamentaron un aumento de la concentración de la tiroxina y disminución de la insulina en el plasma de corderos tratados con 10 ppm de cimaterol, concluyendo que la actividad lipolitica en tejido adiposo es modulada por la hormona tiroidea. Por su parte, algunos investigadores, entre ellos Fain et al.³⁹ y Fiems⁴⁰

mencionan la posibilidad de que aumente la actividad del AMP cíclico fosfodiesterasa al haber una menor secreción de la hormona del crecimiento.

Se sabe que los β A ingeridos con el alimento tienen efectos sobre la composición de la canal en el animal.^{4,7,29,54,59} Tales efectos son logrados por diferentes medios como: el metabolismo y el catabolismo de las grasas (lipólisis, que sería la reducción de grasa) en canal. En las aves, esta reducción es estimulada por el glucagon, y los β A pueden tener un efecto indirecto al estimular, a su vez, la secreción de esta hormona.¹⁷

b. USO DE LOS β A EN LA PRODUCCION ANIMAL

Investigadores como Rothwell *et al.*⁹⁶ describen un control favorable del tejido adiposo en diferentes especies por uso del clenbuterol; reconociendo el potencial anabólico particular de este β A. Debido a estas investigaciones y las que ya hemos mencionado, los β A han sido estudiados en cuanto a los aspectos productivos de los animales tratados, en que, se dice, tienen mucha influencia; pero es difícil, a partir de los datos disponibles, predecir la magnitud exacta que se logra por el uso de alguno de estos compuestos.

Generalmente los aumentos en la ganancia de peso se reflejaban, en un aumento relativo en las tasas de depósito de grasa;⁴⁰ ahora, ya con su posible uso, aunque la ganancia de peso se eleve o disminuya, puede ser que la tasa de deposición de grasa sea la necesaria. Por ejemplo, los

animales que muestran rapidez en la ganancia de peso o alcanzar su madurez productiva, como consecuencia, registran un aumento en el potencial de acción del A β A para prevenir la deposición de grasa; bajo estas circunstancias la ganancia de peso puede disminuir, pero cuando la magnitud del efecto anabólico proteico es mayor que la disminución de grasa, la ganancia de peso aumenta. La naturaleza "equivoca" los efectos en la ganancia de peso y en la ingestión de alimento, pudiendo resultar tanto positiva como negativa; esto demuestra el carácter inapropiado de la relación de conversión alimenticia, como un índice para describir la acción de los A β A. Sin embargo, los datos de estudios donde se utilizaron estos productos aseguran el aumento del porcentaje en calidad de la canal. Estas implicaciones importantes indican cambios en peso de la canal antes de procesarse, al tiempo que se da un incremento constante en el alimento suministrado. A su vez, ello provoca aumento en la producción de carne magra; teniendo un efecto menos claro sobre el crecimiento animal,^{97,111,112} con respecto al obtenido por la acción que ejerce sobre la composición de la canal, ya que la ganancia de peso en pollos, por ejemplo, se ve aumentada en un cinco por ciento.²⁵

Las propiedades farmacológicas de los A β A son diferentes de acuerdo con la edad, la absorción y el metabolismo de los animales en que se aplica. La respuesta es mejor en animales en finalización que en los de iniciación, quizás debido a que estos últimos contienen menor número de

receptores;⁴⁰ otra hipótesis se refiere a que la eficacia de los β A dependa en animales adultos del estado endocrino, puede ser que el aumento del efecto de los β A, se encuentre relacionado con una menor secreción de la hormona del crecimiento.^{39,40}

El mecanismo de acción de los anabólicos esteroides se da tanto en machos como en hembras,^{12,13,104} ya que las hormonas sexuales también están relacionadas con la regulación de los receptores beta-adrenérgicos. El efecto de los β A puede diferir entre antes y después de la pubertad, entre machos y hembras.¹⁰⁴

Por otro lado, experimentos de Duquette y Muir³³ demostraron que algunos agentes β A son más antilipogénicos que lipolíticos; sin embargo, esta última función también la desempeñan ampliamente. Como al inicio del crecimiento los animales necesitan más proteína y menos energía que en el periodo de finalización, y como el mayor depósito de grasa se realiza en finalización, consecuentemente, la inhibición de la lipogénesis es más oportuna que la lipólisis, modificándose el proceso a medida que crece el animal.^{38,52}

c. EL CLENBUTEROL EN LA PRODUCCION ANIMAL

Dentro de los β A se incluyen drogas como el isoproterenol, fenoterol, clenbuterol, cimaterol, L-640033 y BRL35135, ellos pueden diferir en la selectividad y afinidad hacia los beta u otros receptores.^{20,40} De éstos, el clenbuterol (bencilalcohol,4 amino -R- (T-butilamino) metil-

3,5 dicloro) durante varios años fue conocido como antiasmático, broncodilatador y activador fotolítico de aplicación humana y veterinaria. Recientemente, en producción animal se ha descubierto que también funciona como agente repartidor, alterando y distribuyendo la energía en todo el organismo con un aumento de proteína.^{20,40,47,63}

El efecto del clenbuterol sobre los lípidos se ha observado in vivo e in vitro en diferentes especies. En cuanto a su aplicación en cerdos, este producto no estimula la lipólisis in vitro de tejido adiposo; pero aumenta los ácidos grasos en plasma y la concentración de glicerol en sangre cuando es inyectado.⁷⁰

En ovinos, la inhibición de la síntesis de grasa, al evitar la esterificación de ácidos grasos por el clenbuterol en tejido adiposo, así como el aumento de la lipólisis están ampliamente documentadas.^{18,40,49,69,70,107} Coleman et al.,¹⁷ en sus estudios metabólicos en ovejas, encontraron que, con el uso de estos productos la producción de grasa estaba reducida al disminuir el número total de células grasosas.

Experimentos en ratas, demostraron que la administración del $A\beta A$ clenbuterol provocó hipertrofia muscular asociada con el aumento de las fibras musculares tipo I y II;^{18,56} el incremento muscular con mayor depósito de proteína se puede deber a un aumento en la síntesis proteica³⁷ o que disminuye su degradación.⁸⁶ Estos efectos alteran el metabolismo porque el tejido magro es más activo

que el grasoso. Asimismo, el músculo hipertrofiado coincide con el aumento en la retención de nitrógeno: ambos miden un aumento de proteína muscular;⁹ el medio en el cual aumenta la deposición de proteína requiere sólo de un incremento de la síntesis y menos degradación de ésta; el efecto obtenido del clenbuterol en diferentes especies proporciona evidencia de que se reduce la degradación proteica.⁸⁶ Por último, es factible considerar que este efecto puede ser propiciado por la disminución de la enzima proteolítica lisosomal.⁹¹

Willian et al.¹¹² observaron que se mejoró el peso en canal en bovinos, a la vez que se redujo el peso de las vísceras (hígado, corazón, intestino) y la grasa en canal; el análisis de nitrógeno y grasa contenidos en la canal y en las vísceras indicó que, especialmente, el uso del clenbuterol promovía el aumento de masa muscular y repartía mejor el nitrógeno, aunque se han logrado diferentes respuestas dependiendo de la región muscular; esto puede ser atribuido por su función y a la existencia de sitios de predilectos para mayores cambios.^{57,113}

Mucha atención se concentra actualmente en el uso de agentes simpaticomiméticos para la manipulación del crecimiento y composición corporal de los pollos. Particularmente en el efecto de reducción de grasa en el cuerpo, ya que excesiva grasa provoca problemas como los que se han mencionado anteriormente,^{20,39} además de que el aprovechamiento del alimento por el animal se da en forma menos eficiente que en pollos menos grasosos del mismo peso y

edad; siendo una pérdida para el engordador y consumidor.¹¹¹ El clenbuterol y el cimaterol poseen las propiedades de efectuar cambios en la composición del cuerpo; hecho que los hace comercialmente importantes para su aplicación en las especies domésticas.^{46,55}

En estudios donde se ha aplicado el clenbuterol como aditivo en el alimento de pollos de engorda en la fase de finalización a diferentes niveles (0.25, 0.50, 1.0, 2.0 y 4.0 ppm), se ha logrado mejor respuesta en los parámetros productivos a las dosis de 0.25, 0.50, 1.0 y 2.0 ppm.²⁵

Se ha sugerido que los animales suplementados con este producto requieren de un alto nivel de proteína en la dieta, pero poco se conoce de los requerimientos de aminoácidos, y prácticamente nada sobre las necesidades de minerales como calcio y fósforo, así como de vitaminas; tampoco sobre el efecto del clenbuterol en la asimilación de estos nutrimentos,¹¹² por lo que quedan pendientes las respuestas a estos aspectos.

C. JUSTIFICACION

La industria avipecuaria ha desarrollado una serie de aditivos que mejoran los parámetros productivos. Los resultados parecieran brindar completa satisfacción; posiblemente debido a que se ha avanzado mucho en lograr buen peso antes de lo establecido, con un menor consumo de alimento y, por lo tanto, una mejor conversión alimenticia,

así como un "mayor retorno económico". Sin embargo, esto se ha acompañado con el engrase excesivo en la canal, lo que perjudica enormemente la nutrición humana y el aspecto económico del productor; además de que se ha elevado la mortalidad por trastornos metabólicos de los animales al acelerar su crecimiento. Estos inconvenientes, aunados al desconocimiento de los productores sobre las opciones como los agonistas beta-adrenérgicos compuestos, que actúan directamente en el organismo degradando grasa, indican que los resultados no son tan satisfactorios.

Con base en lo anterior, se planteó para generar más información en este trabajo investigar como se afectan los parámetros productivos, la grasa en la canal, vía la lipogénesis y la lipólisis; estudiando si el clenbuterol causa una mayor síntesis proteica al provocando mayor hipertrofia muscular; así como determinar cuál es el efecto de este producto sobre la asimilación de calcio y fósforo.

EXPERIMENTO I

A. HIPOTESIS

La suplementación de clenbuterol a las dosis de 0.00, 0.50, 1.00, 1.50 y 2.00 ppm, en dietas para pollos de engorda de los 29 a los 49 días de edad, se postula que:

Los pollos de engorda alimentados con clenbuterol presentan mejoras significativas en cuanto al incremento de peso, consumo de alimento, conversión alimenticia y deposición de grasa en abdomen.

B. OBJETIVO

El propósito de esta investigación fue determinar el efecto del clenbuterol suplementado a diferentes dosis en la dieta de pollos de engorda sobre los parámetros productivos. Para verificar este objetivo se cuantificó el peso corporal, consumo de alimento, conversión alimenticia y la cantidad de grasa acumulada en abdomen.

C. MATERIAL Y METODOS

El presente trabajo se realizó en las instalaciones avícolas del Campo Experimental "Valle de México", ubicado en Chapingo, Estado de México, dependiente del Instituto Nacional de Investigaciones

Forestales y Agropecuarias de la SARH. El campo experimental está localizado en las coordenadas 19° 43' y 98° 53', con una precipitación anual promedio de 710.3 mm, y temperatura climática C (w)l (w)b (i')g. 44

El experimento consistió en alimentar a 300 pollos de engorda (50% hembras y 50% machos, en criadoras eléctricas de baterías) inicialmente desde el día uno hasta el 28 con una misma dieta. Al terminar la etapa de iniciación se obtuvo el peso corporal de los animales y se escogieron 200, mitad hembras y mitad machos. A los 29 días de edad, las aves se distribuyeron aleatoriamente en 20 lotes que comprendieron cinco tratamientos; cada tratamiento tuvo dos repeticiones con diez hembras cada una y dos repeticiones iguales de diez machos. Los pollos fueron colocados en las jaulas de acero inoxidable para aves en finalización, y ahí dispusieron de agua y alimento a libre acceso, con luz natural.

La dieta preexperimental a base de sorgo + pasta de soya para la etapa de iniciación (uno a 28 días) contenía 3026 kcal/kg de alimento, 22% de proteína, 1.25% de lisina, 0.92% de metionina + cistina, 1% de calcio y 0.48% de fósforo disponible (Cuadro 1).

La dieta basal sorgo + pasta de soya que se empleó durante la etapa de finalización (29 a 49 días) aparece en el Cuadro 1. Los tratamientos experimentales consistieron en suplementar a esta con el beta adrenérgico. El contenido de clenbuterol suplementado

para el tratamiento uno (T I), o testigo, fue de 0.00 ppm, y para los tratamientos II, III, IV y V, fue de

CUADRO 1
COMPOSICION DE LAS DIETAS EMPLEADAS PARA
LOS PERIODOS DE INICIACION Y FINALIZACION

Ingredientes %	iniciación	finalización
Sorgo	56.834	58.864
Pasta de soya	35.780	34.100
Carbonato de calcio	1.286	0.924
Ortofosfato de calcio	1.906	1.807
Dl. metionina	0.229	0.140
Vitaminas*	0.250	0.250
Minerales*	0.100	0.100
Aceite vegetal	3.200	3.000
Sal	0.400	0.400
Antioxidante	0.015	0.015
Pigmento	-----	0.400
Análisis calculado (%)		
Proteína cruda	22.000	20.000
Lisina	1.250	1.000
Metionina + cistina	0.920	0.770
Calcio total	1.000	0.950
Fósforo total	0.480	0.470
EM. kcal/kg	3026	3030

* = De acuerdo con las recomendaciones de Cuca et al.²³

0.50, 1.00, 1.50 y 2.00 ppm, respectivamente. En todos los casos se aplicó 3030 kcal de EM/kg de alimento, 20% de proteína cruda, 1% de lisina, 0.77% de metionina + cistina, 0.95% de calcio, 0.47% de fósforo disponible. Las cantidades de nutrimentos se determinaron de acuerdo con las sugerencias de Cuca et al.²³ y NRC.⁸¹

Las diferentes variables a medir entre los tratamientos, cuando los pollos cumplieron los 48 días de

edad fueron: consumo de alimento, ganancia de peso, conversión alimenticia y grasa depositada en abdomen.

En cuanto al consumo de alimento, éste se determinó con base en el alimento asignado a cada lote durante el periodo y restando el residuo al final de la fase.

La ganancia de peso total de cada lote se registró pesando a todas las aves asignadas al mismo, al final del experimento, y restándole el peso inicial a la fase de finalización.

La conversión alimenticia se definió a través de la siguiente fórmula:

Consumo de alimento total / Ganancia de peso total

Para determinar la grasa depositada en abdomen (la grasa de la región retroperitoneal), se utilizó una muestra de ocho aves por tratamiento (cuatro hembras y cuatro machos), escogidas al azar (dos de cada repetición).

Las aves fueron sacrificadas, pesándolas previamente una por una y registrando el dato, para posteriormente calcular el porcentaje de la grasa que se extrajo individualmente. Después de sacrificarlas, desplumarlas, y hecha la limpieza de rutina, con las canales sin eviscerar, se les extrajo la grasa y se pesó de la manera señalada por Becker et al.³ y Deaton et al.³⁰

Los resultados de las variables en estudio se sometieron a un análisis de varianza (ANDEVA) conforme el diseño planteado, y los tratamientos a un arreglo factorial 2 x 5, en donde el primer factor fue el sexo (machos y hembras) y el otro lo constituyeron los cinco tratamientos, cada uno por duplicado. Dicho análisis permitió evaluar simultáneamente el efecto del clenbuterol sobre el sexo y sobre las cuatro variables de interés, con un nivel de significancia al cinco por ciento.

El modelo al cual se le atribuyó el total de la variación fue de efectos fijos, siendo:

$$Y_{ijk} = \mu + D_i + S_j + (DS)_{ij} + \epsilon_{ijk}$$

Donde:

Y_{ijk} = Variable de respuesta.

μ = Media general.

D_i = Efecto del i-ésimo tratamiento.

S_j = Efecto del j-ésimo sexo.

$(DS)_{ij}$ = Interacción.

ϵ_{ijk} = Error aleatorio.

D. RESULTADOS

El Cuadro 2, muestra los análisis de varianza para ganancia de peso corporal, consumo de alimento, conversión alimenticia y grasa depositada en abdomen. Los resultados, obtenidos a los 48 días de edad de los pollos

que recibieron distintos niveles de clenbuterol, indicaron diferencias significativas ($P < 0.05$) al comparar el peso promedio de las aves entre sexos, así como de la grasa abdominal en relación con los niveles de clenbuterol estudiados.

CUADRO 2
ANÁLISIS DE VARIANZA PARA PESO CORPORAL, CONSUMO DE ALIMENTO, CONVERSIÓN ALIMENTICIA Y GRASA ABDOMINAL, EN POLLOS DE ENGORDA DE 28 A 48 DÍAS DE EDAD

Fuente de variación	gl.	Cuadrados medios			
		Peso	Consumo	Conversión A.	Grasa abd.
Niveles	(4)	0.00630	0.02450	0.00002	0.0678*
Sexo	(1)	0.06647*	0.01721	0.01261	0.0047
N x S	(4)	0.00058	0.01516	0.02293	0.0045
Error	10	0.00656	0.02296	0.00899	0.0085

* = Diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.05$)

N x S = Niveles por sexo

CUADRO 3
PESO PROMEDIO (kg) EN POLLOS DE ENGORDA ALIMENTADOS HASTA LOS 48 DÍAS DE EDAD CON DIETAS QUE INCLUYERON CLENBUTEROL

Sexo	Niveles de clenbuterol (ppm)					Medias
	0.00	0.50	1.00	1.50	2.00	
Machos	2.098	2.090	2.097	1.985	2.070	2.066 ^a
Hembras	1.988	1.975	1.945	1.900	1.955	1.953 ^b
Medias	2.043 ^a	2.032 ^a	2.021 ^a	1.942 ^a	2.012 ^a	

a,b = Valor con distinta literal representa diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.05$)

Los promedios de peso en función de la interacción de niveles de clenbuterol por sexo se muestran en el Cuadro 3, inclinándose las diferencias (P

< 0.05) favorablemente hacia los machos, y como se aprecia sin efecto sobre esta variable la adición del clenbuterol.

No se observaron diferencias estadísticamente significativas ($P > 0.05$) para consumo de alimento. Los datos del Cuadro 4 presentan los promedios de este parámetro con valores sin efecto hacia alguna de las comparaciones, no obstante apreciase un menor consumo de alimento en las hembras respecto a los machos.

CUADRO 4
MEDIAS GENERALES PARA CONSUMO DE ALIMENTO (kg)
GLOBAL DURANTE LA ETAPA DE 28 A 48 DIAS*

Sexo	Niveles de clenbuterol (ppm)					Medias
	0.00	0.50	1.00	1.50	2.00	
Machos	2.71	2.79	2.63	2.64	2.89	2.73
Hembras	2.69	2.77	2.63	2.62	2.60	2.66
Medias	2.70	2.78	2.63	2.63	2.74	

* = No se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($P > 0.05$) entre tratamientos

CUADRO 5
MEDIAS GENERALES PARA
CONVERSION ALIMENTICIA DE 28 A 48 DIAS*

Sexo	Niveles de clenbuterol (ppm)					Medias
	0.00	0.50	1.00	1.50	2.00	
Machos	2.30	2.44	2.27	2.48	2.57	2.41
Hembras	2.44	2.47	2.42	2.48	2.32	2.42
Medias	2.37	2.45	2.44	2.48	2.44	

* = No se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($P > 0.05$) entre tratamientos

Para la conversión alimenticia acumulada, al final de este experimento no se encontraron diferencias significativas ($P > 0.05$), entre tratamiento (sexo o niveles de clenbuterol), como se puede apreciar en el Cuadro 5.

Finalmente, en lo que respecta a la grasa abdominal medida (Cuadro 6), solamente se encontraron diferencias significativas ($P < 0.05$) al comparar el efecto del β -adrenérgico, siendo mejor el tratamiento en que se suplementó con 1 ppm de clenbuterol.

CUADRO 6
PORCENTAJES DE GRASA ABDOMINAL EN POLLOS DE ENGORDA
ALIMENTADOS DE 28 A 48 DIAS DE EDAD CON DIETAS QUE
INCLUYERON CLENBUTEROL

Sexo	Niveles de clenbuterol (ppm)					Medias
	0.00	0.50	1.00	1.50	2.00	
Machos	1.44	1.27	0.80	1.23	1.39	1.23 ^a
Hembras	1.50	1.45	0.62	1.41	1.62	1.32 ^a
Medias	1.47 ^a	1.36 ^a	0.71 ^b	1.32 ^a	1.50 ^a	

a,b = Valores con distinta literal representan diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.05$)

E. DISCUSION

En este estudio se observó mejor peso corporal final de los machos comparados con las hembras, lo que está apoyado por diversos autores, entre ellos Edwards;³⁵ pero no se encontraron diferencias entre tratamientos a la adición del β -adrenérgico, hecho que está en

desacuerdo con los resultados ya obtenidos por Dalrymple et al.,²⁵ quienes, al administrar clenbuterol a los niveles de 0.00, 0.25, 0.50, 1.00, 2.00 y 4.00 ppm de 28 a 49 días de edad en pollos de engorda, observaron un mayor peso de los que consumieron alimento con los niveles de 0.25 a 2.00 ppm, comparados con los testigo y con el tratamiento en que se usó mayor cantidad del producto. Existen referencias que indican que este efecto también se logra si se utilizan otros β -agonistas adrenérgicos; tal es el caso de Beermann et al.,⁶ en ovejas, y Hanrahan et al.,⁴⁸ en bovinos.

El no encontrar efecto en el peso corporal a la adición de clenbuterol en este trabajo, coincide con lo expuesto por Ornelas,⁸² quien empleó un β -adrenérgico en cerdos. Quizas lo que sucedió en este trabajo fue debido a al breve periodo en que se suministró el beta adrenérgico, 20 días, en comparación con otros estudios en que se ha ofrecido por 28 días.²⁵

En cuanto al consumo de alimento, la ausencia de diferencias significativas en este estudio coincide con los resultados expuestos por otros autores, tanto en aves como en otras especies.^{7,21}

En conversión alimenticia tampoco hubo diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos; pero se han encontrado resultados contrarios en experimentos realizados por otros autores (Dalrymple et al.,²⁸ Muir et al.,⁷⁵ Ricks et al.⁸⁹).

Otra de las variables estudiadas en este experimento fue la deposición de grasa, la cual fue mejorada significativamente en los pollos que consumieron alimento conteniendo 1.00 ppm de ABA; en estas aves se redujo en 58% la grasa acumulada en canal, en comparación con la de las aves del tratamiento testigo. Tal respuesta se debe a que el β -adrenérgico actúa directamente sobre el tejido adiposo, facilitando al β -receptor la inducción de lipólisis.²⁰ Se pudo observar que disminuyó la grasa a medida que fue aumentando el producto en los tratamientos hasta llegar a 1.00 ppm de clenbuterol. Este efecto fue inversamente proporcional para los tratamientos con mayor cantidad de ABA, provocando aumento en el depósito de grasa en canal. Otro dato que aunque no fue estadísticamente diferente, al igual que el anterior, coincide con lo expuesto por Dalrymple et al.:²⁵ el hecho de que las hembras almacenen más grasa que los machos.

F. CONCLUSIONES

Con base en lo anterior, se puede concluir que el clenbuterol, utilizado a niveles de 0.50, 1.00, 1.50 y 2.00 ppm en pollos de engorda de 28 a 48 días de edad, no tiene efecto estadísticamente significativo en cuanto a peso corporal, consumo de alimento y conversión alimenticia. Quizás si se utilizara por mayor tiempo, se

podría encontrar tal efecto sobre estas variables. Sin embargo, los resultados no fueron perjudiciales.

En cuanto a la grasa abdominal evaluada en este experimento, el clenbuterol a 1 ppm mezclado en el alimento para pollos de engorda, en la fase de finalización, se reduce significativamente el almacenamiento de grasa abdominal, lo que redundó en una mejor composición de la canal.

EXPERIMENTO II

A. HIPOTESIS

Los pollos de engorda de los 21 a 49 días de edad que consuman alimento suplementado con clenbuterol en la dosis de 1 ppm (dado que fue la dosis que mejor resultado manifestó en el experimento I), presentarán mejor peso corporal, conversión alimenticia, y calidad de la canal.

B. OBJETIVO

Determinar el efecto de adición de clenbuterol, a 1.00 ppm en el alimento de pollos de engorda, sobre los parámetros productivos. Además de su efecto sobre la síntesis proteica, inyectando aminoácidos marcados con radiactividad a las aves y verificando cuántos de estos aminoácidos formaron parte de las proteínas.⁷⁸ También se determinó el porcentaje de proteína, humedad y cenizas, así como los mg de calcio y fósforo (por cada 100g de muestra) en la canal de estas aves, por medio del análisis bromatológico.

C. MATERIAL Y METODOS

Se realizó en el mismo lugar (en las instalaciones avícolas del Campo Experimental "Valle de

México", ubicado en Chapingo, Estado de México, dependiente del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales y Agropecuarias de la SARH), se trabajó sobre un total de 200 pollitos Indian River con iguales características (mitad hembras y mitad machos).

Las aves fueron alimentadas con una dieta de iniciación durante los primeros 21 días de edad en la caseta equipadas en jaulas eléctricas en batería. A los 22 días de edad se distribuyeron aleatoriamente en 12 pisos de jaulas para aves en desarrollo, que comprendieron dos tratamientos; cada tratamiento constó de seis repeticiones, tres de hembras y tres de machos con diez aves cada una. Las aves dispusieron de agua y alimento a libre acceso, así como de luz natural.

La dieta empleada (Cuadro 1) tanto para la etapa de iniciación como de finalización tuvieron las mismas características que la presentadas en el Experimento uno, excepto que para la de finalización se utilizó la dieta sin y con clenbuterol a 1 ppm, que fue el nivel que respondió mejor a las variables medidas en dicho experimento.

Diariamente se realizó una inspección y evaluación de comederos, bebederos, registros y equipo de la granja, con la idea de mantener un manejo adecuado y lograr uniformidad en las condiciones ambientales de todos los lotes.

Se preparó el alimento 7 días antes del inicio de cada fase nutricional y se tomaron muestras de cada tratamiento para realizar el análisis químico proximal.

Cuando llegaron las aves al campo experimental fueron alojadas en la caseta, inmediatamente se les proporcionó agua a libre acceso, con electrolitos (1 g/litro de agua durante cinco días), y cuatro horas después se les suministró el alimento correspondiente a la etapa de iniciación.

A los 21 días de edad, se obtuvo el peso corporal de todos los animales y se distribuyeron las aves de la misma forma que en el primer experimento, para pasar al periodo de finalización. Y, una vez concluido a los 48 días de edad, se evaluó el peso corporal, el consumo de alimento y la conversión alimenticia, de acuerdo a lo señalado en el primer experimento pero de los 21 a los 48 días de edad.

Al finalizar este segundo experimento, el tamaño de muestra de aves sacrificadas utilizado por tratamiento fue de 12 aves (6 hembras y 6 machos), dos de cada repetición para valorar el efecto del producto sobre la síntesis proteica, así como los porcentajes de proteína, humedad y cenizas, así como la cantidad de calcio (mg/100g) y fósforo (mg/100g), en la canal completa del ave.

Para evaluar la síntesis proteica (en el Instituto de la Nutrición "Salvador Zubirán") se

inyectaron a las aves al día 48 por vía intravenosa la dosis de 1.11 MBq (30 μ Ci) de L-[4-³H] fenilalanina, con actividad específica de 174 mCi/mg y con concentración radiactiva de 1.0 mCi/ml (de los laboratorios AMERSHAM INTERNATIONAL), se utilizó como acarreador fenilalanina no marcada a una concentración total de 30 μ Ci, en 120 μ mol. De esta mezcla se homogeneizó con 40 ml de NaCl 0.85%. De este compuesto se inyectó 0.5 ml por cada 100 g de peso corporal.⁷⁸

Las canales se cortaron en pequeñas partes y se molieron en un molino de carne marca Hobart.

De la carne molida se tomó una muestra de 1 g y se homogeneizó en 5 ml de ácido tricloroacético frío (TCA al 10%). El precipitado fue colectado después de centrifugación a 1800 rpm por diez minutos y lavado dos veces con 1 ml de solución de TCA. El presepitado fue combinada con 1 ml de TCA, y de esta solución se tomó 0.1 ml para mezclarlo con tolueno centellante que contuvo 2g de 2,5-difenil-oxazole (PPO) y 50 mg de 1,4 bis (2 - (5difenil-oxazolil) benceno) (POPOP)/litro, y la radiactividad medida en dpm (desintegraciones por minuto) en un contador de centelleo líquido (PACKARD TRI-CARB 300) por 10 minutos.⁷⁸

Para evaluar las demás variables (porcentaje de proteína, humedad y cenizas, así como mg de Ca y P/100g de muestra) fue necesario cortar en partes y moler todo (incluyendo plumas y huesos) el cuerpo del ave en un

molino de carne marca Hobart; luego se homogenizó el contenido y se extrajo una muestra de 200 g, de la cual se obtuvo el material que sería el análisis químico proximal según el procedimiento de la AOAC.¹

Los resultados de las variables en estudio se sometieron a un análisis de varianza (ANDEVA) conforme el diseño factorial 2 x 2 empleado. Se pudo evaluar simultáneamente el efecto de tratamiento sobre sexo y sobre nueve variables de interés, por medio del análisis estadístico (SAS),⁹⁸ con un nivel de significancia al cinco por ciento.

El modelo al cual se le atribuyó el total de la variación fue de efectos fijos, siendo:

$$Y_{ijk} = \mu + D_i + S_j + DS_{ij} + \epsilon_{ijk}$$

$$i = 1-2$$

tratamientos

$$j = 1-2$$

sexo

Donde:

Y_{ijk} = Variable de respuesta.

μ = Media general.

D_i = Efecto del i-ésimo tratamiento.

S_j = Efecto del j-ésimo sexo.

DS_{ij} = Interacción.

ϵ_{ijk} = Error aleatorio.

D. RESULTADOS

El Cuadro 7 muestra los análisis de varianza para ganancia de peso corporal, consumo de alimento y conversión alimenticia de los pollos de engorda durante la etapa de finalización. Los resultados se registraron a los 48 días de edad de las aves; al evaluar el efecto sobre sexo, se encontraron diferencias estadísticas para todas las variables, y de la interacción de clenbuterol y sexo (C x S), solamente para el consumo de alimento.

CUADRO 7
ANÁLISIS DE VARIANZA PARA PESO CORPORAL, CONSUMO DE ALIMENTO y CONVERSION ALIMENTICIA, EN POLLOS DE ENGORDA DE 21 a 48 DIAS DE EDAD

Origen de variación	Cuadrados medios			
	gl.	Peso corporal	Consumo de alimento	Conversión alimenticia
Clenbuterol	(1)	0.0033	0.0003	0.0030
Sexo	(1)	0.0833**	0.1121**	0.0061*
C x S	(1)	0.0033	0.0243*	0.0010
Error	8	0.0013	0.0024	0.0007

* = Diferencias estadísticamente significativas (P < 0.05)

** = Diferencias altamente significativas (P < 0.01)
C x S = Clenbuterol por sexo

Por lo que respecta al peso corporal y consumo de alimento, en el Cuadro 8 se muestran los promedios. Se observó que los machos, comparados con las hembras, pesaron y consumieron significativamente más alimento (P < 0.01). Cuando se evaluó la interacción, se encontraron

diferencias significativas ($P < 0.05$) para consumo de alimento, las hembras alimentadas con clenbuterol

CUADRO 8
 MEDIAS GENERALES PARA PESO CORPORAL (kg) Y CONSUMO DE ALIMENTO (kg) EN POLLOS DE ENGORDA DE 21 a 48 DIAS DE EDAD

	Peso corporal (kg)			Consumo de alimento (kg)		
	Machos	Hembras	Medias	Machos	Hembras	Medias
N.	1.733	1.600	1.667 ^a	2.84 ^{bc}	2.74 ^{ab}	2.79
T.	1.800	1.600	1.700 ^a	2.94 ^a	2.66 ^a	2.80
Medias	1.767 ^a	1.600 ^b		2.89	2.70	

a, b = Valores con distinta literal representan diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.05$)

N. = Corresponde al tratamiento testigo donde no se aplicó el clenbuterol

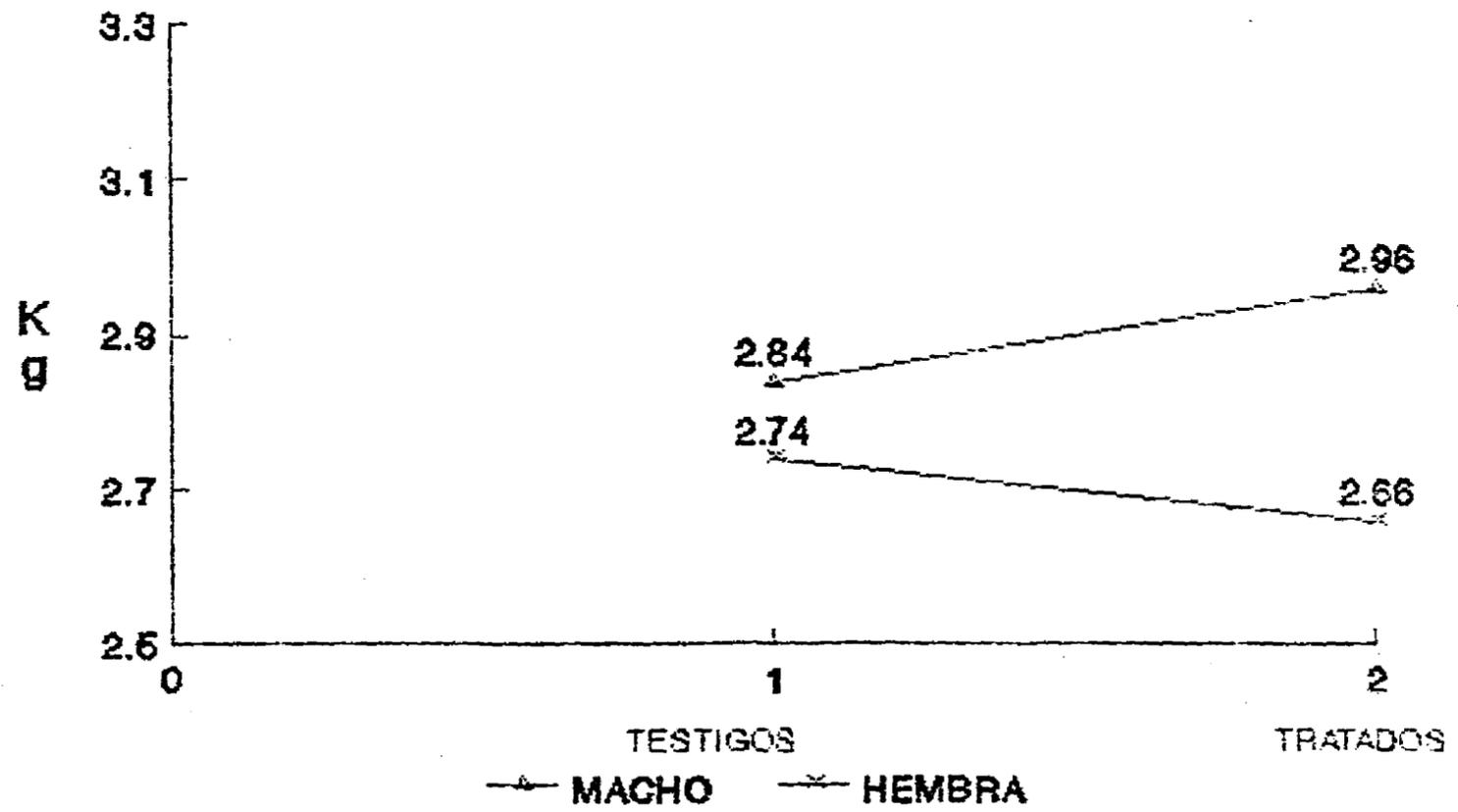
T. = Corresponde al tratamiento de las aves donde se aplicó el clenbuterol

fueron las que consumieron menos. Sin embargo, las hembras testigo consumieron alimento de manera semejante a los machos, también del testigo y los machos del tratamiento donde se aplicó el producto fueron los que consumieron más alimento (gráfica 1).

Los datos correspondientes a la conversión alimenticia se presentan en el Cuadro 9. Al hacer la comparación en cuanto a sexo, se encontró que en esta variable los machos tuvieron significativamente ($P < 0.05$) mejores resultados que las hembras.

GRAFICA 1

CONSUMO DE ALIMENTO DE AVES NO TRATADAS
Y TRATADAS CON CLENBUTEROL A 1PPM DE 21
A 48 DIAS DE EDAD



CUADRO 9
 MEDIAS GENERALES PARA LOS RESULTADOS DE CONVERSION
 ALIMENTICIA Y LA SINTESIS PROTEICA (mg/g) EN POLLOS DE
 ENGORDA DE 21 a 48 DIAS DE EDAD

	Conversión alimenticia			Síntesis proteica dpm		
	Machos	Hembras	Medias	Machos	Hembras	Medias
N.	1.65	1.71	1.68 ^a	306	306	348 ^b
T.	1.63	1.66	1.65 ^a	527	467	497 ^a
Medias	1.64 ^a	1.69 ^b		416 ^a	386 ^a	

a, b = Valores con distinta literal representan diferencias estadísticamente significativas (P < 0.05)

N. = Corresponde al tratamiento testigo en el que no se aplicó el clenbuterol

T. = Corresponde al tratamiento de las aves en que se aplicó el clenbuterol

El Cuadro 10 muestra los análisis de varianza para las dpm de síntesis proteica; así como el porcentaje de proteína y humedad en muestras de la canal de las aves, correspondiente al periodo de finalización. Como se puede apreciar, hubo diferencias estadísticamente significativas del efecto sobre tratamiento en las variables correspondientes a síntesis proteica (P < 0.01) y porcentaje de proteína en canal (P < 0.05).

CUADRO 10
ANALISIS DE VARIANZA PARA LA SINTESIS PROTEICA, ASI COMO
LOS PORCENTAJES DE PROTEINA Y HUMEDAD, EN LA CANAL DE LAS
AVES A LOS 48 DIAS DE EDAD

Origen de variación	gl.	Cuadrados medios		
		Síntesis proteica	Proteína	Humedad
Clenbuterol	(1)	60469973**	2.1421*	0.3924
Sexo	(1)	2301515	0.1344	1.9441
C x S	(1)	8904981	0.2214	0.7351
Error	8	3734408	1.3377	5.9826

** = Diferencias altamente significativas (P < 0.01)
* = Diferencias significativas (P < 0.05)
C x S = Clenbuterol por sexo

Los resultados correspondientes a síntesis proteica (Cuadro 10) y porcentaje de proteína en canal (Cuadro 11) mostraron diferencias significativas cuando se compararon los

CUADRO 11
MEDIAS GENERALES DE LOS PORCENTAJES DE PROTEINA Y HUMEDAD
EN LA CANAL DE POLLOS DE ENGORDA A LOS 48 DIAS DE EDAD

	Proteína %			Humedad* %		
	Machos	Hembras	Medias	Machos	Hembras	Medias
N.	21.23	20.74	20.99 ^a	65.2	65.5	65.4
T.	21.80	21.86	21.83 ^b	65.1	66.4	65.8
Medias	21.52 ^a	21.30 ^a		65.2	66.0	

a, b = Se encontraron diferencias estadísticamente significativas (P < 0.05)
* = No se encontraron diferencias estadísticamente significativas (P > 0.05)
N. = Corresponde al tratamiento testigo donde no se aplicó el clenbuterol
T. = Corresponde al tratamiento de las aves donde se aplicó el clenbuterol

valores medios de cada tratamientos, aportando más proteína en las aves que se suplementaron con el clenbuterol. En cuanto al porcentaje de humedad (Cuadro 11), no se observaron diferencias estadísticas ($P > 0.05$) en ninguna de las comparaciones efectuadas.

En el Cuadro 12 aparece el análisis de varianza para los mg de calcio y fósforo por cada 100 g de muestra, y el porcentaje de cenizas, en la canal de las aves, correspondiente al periodo de finalización. Como se puede apreciar, no hubo diferencias significativas ($P > 0.05$) en ninguno de los efectos.

CUADRO 12
ANALISIS DE VARIANZA PARA LOS mg DE CALCIO Y FOSFORO POR
CADA 100 g DE MUESTRA, ASI COMO PARA EL PORCENTAJE DE
CENIZAS, EN LA CANAL DE LAS AVES A LOS 48 DIAS DE EDAD*

Cuadrados medios				
Origen de variación	gl.	Calcio	Fósforo	Cenizas
Clenbuterol	(1)	0000.25	3856.03	0.0102
Sexo	(1)	1669.70	219.74	0.1027
C x S	(1)	8695.70	2187.81	0.0080
Error	8	8753.57	1717.78	0.2029

* = No existieron diferencias significativas
($P > 0.05$)
C x S = Clenbuterol por sexo

Los datos promedios obtenidos en cuanto a mg de calcio y fósforo por cada 100 g de muestra, se observaron

en el Cuadro 13. Se puede apreciar resultados similares (P > 0.05) entre tratamientos y en cuanto a sexo.

CUADRO 13
 MEDIAS GENERALES SOBRE LOS RESULTADOS DE CALCIO Y FOSFORO
 (mg/100g) EVALUADOS EN LA CANAL DE POLLOS DE ENGORDA A
 LOS 48 DIAS DE EDAD*

	Calcio en canal (mg/100g)			Fósforo en canal (mg/100g)		
	Machos	Hembras	Medias	Machos	Hembras	Medias
N.	391	313	352	244	228	236
T.	337	368	352	253	271	262
Medias	364	340		248	252	

* = No se encontraron diferencias estadísticamente significativas (P > 0.05)
 N. = Corresponde al tratamiento testigo donde no se aplicó el clenbuterol
 T. = Corresponde al tratamiento de las aves donde se aplicó el clenbuterol

CUADRO 14
 RESULTADOS SOBRE EL PORCENTAJE DE CENIZAS EN LA CANAL
 DE POLLOS DE ENGORDA A LOS 48 DIAS DE EDAD*

	Cenizas en canal %		
	Machos	Hembras	Medias
N.	3.26	3.49	3.38
T.	3.37	3.50	3.44
Medias	3.32	3.50	

* = No se encontraron diferencias estadísticamente significativas (P > 0.05)
 N. = Corresponde al tratamiento testigo donde no se aplicó el clenbuterol
 T. = Corresponde al tratamiento de las aves donde se aplicó el clenbuterol

Igualmente, las medias generales correspondientes al porcentaje de cenizas en las canales de los pollos de engorda (Cuadro 14) resultaron semejantes ($P > 0.05$) entre los distintos tratamientos.

E. DISCUSION

PESO CORPORAL

Para peso corporal, en el presente experimento, de igual manera a lo observado en el primero, sólo encontraron diferencias estadísticas en cuanto al sexo, logrando 9.45% más de peso los machos que las hembras.

Cuando se compararon los tratamientos, no se encontraron beneficios estadísticamente significativos para las aves que se suplementaron con clenbuterol. Tales datos son contradictorios con los de Dalrymple et al.,²⁵ Estos investigadores mostraron un incremento de peso significativo (de un 3.3 a un 5.1%) en los pollos de engorda suplementados con este agonista β -adrenérgico. Diversos experimentos conducidos en Estados Unidos de Norteamérica y Alemania, concernientes a suplementar cimaterol en la dieta pollos de engorda con (otro β -adrenérgico), son resumidos por Darlymple et al.²⁷, y Scholtyssek et al.;¹⁰⁰ tales experimentos son consistentes en registrar un incremento de peso en los animales. Por su parte, Merkley y Garwood⁶⁷ mostraron diferencias significativas en el peso utilizando 0.50 y

1.00 ppm de cimaterol de igual manera. En cuanto a la aplicación del agonista β -adrenérgico L340,333, también resultó en aumento en la ganancia de peso en pollos de engorda en experimentos realizados por Muir et al.⁷⁵ así como en los trabajos de Duquette y Muir.³³ Por otro lado, Baker et al.² detectaron en corderos una ganancia de peso hasta de un 24.1% más que el testigo, usando 2 ppm de CL263,780.

Sin embargo, Merkley y Cartwright⁶⁵ no observaron ningún efecto con 0.25 ppm de cimaterol, cuando compararon los pesos de los pollos de engorda tratados contra los testigos. También se tiene el caso de Buyse et al.,¹⁴ quienes utilizaron 0.42 ppm de clenbuterol suplementado en la dieta de pollos de engorda hasta las 6 semanas de edad, sin que obtuvieran diferencias estadísticamente significativas. Por su parte, Ricks et al.⁸⁹ alimentaron cerdos suplementados con 1.00 ppm de clenbuterol, y sus resultados no mostraron diferencias significativas en cuanto a peso. Moser et al.,⁷⁴ utilizando esta misma especie animal y experimentando con 0.25, 0.50 y 1.00 ppm de cimaterol, tampoco encontraron tampoco diferencias estadísticas en peso entre tratamientos.

CONSUMO DE ALIMENTO

En cuanto a consumo de alimento, hubo menos consumo en las hembras que los machos en un 6.57%; hecho

que era de esperarse ya que los machos consumen más que las hembras.⁹⁰ Sin embargo, se encontró que las hembras tratadas fueron las que consumieron menos y los machos de este mismo tratamiento fueron los que consumieron más.

Cabe aclarar que en esta variable los resultados de la literatura son contradictorios; en varios experimentos los mismos investigadores han obtenido resultados diferentes. Se han dado casos en que reportan que no encontraron diferencias estadísticas en un experimento, y luego realizan otro y resulta un mayor consumo a favor de los animales tratados, tal es el caso de Dalrymple *et al.*²⁵

Otro trabajo en desacuerdo es el de Buyse *et al.*,¹⁴ quienes midieron el efecto del clenbuterol en pollos de engorda de 0 a 2, de 2 a 4 y de 4 a 6 semanas de edad. Obtuvieron diferencias significativas a favor de los tratados cuando les midieron el consumo de alimento de 0 a 2 semanas (que es cuando se supone que no hay suficientes β -receptores, para que actúen los ABA), pero no así en los otros experimentos (que es cuando las aves tienen funcionando la mayor parte de los β -receptores y, entonces, es cuando puede lograrse mayor efecto).

También se encuentran con los resultados de Eisen *et al.*,³⁶ estos investigadores utilizaron los ABA en otra especie y vieron que los animales tratados no mostraron resultados mejores o iguales al testigo, sino que, por el contrario, consumieron más.

Sin embargo, existen varios informes de diferentes investigadores que han utilizado los ABA como suplemento alimenticio en diferentes especies y han logrado resultados de menor consumo en de los animales tratados. Se tiene el caso de Cronwell et al.,²² quienes utilizaron cimaterol a 0.25 y 0.50 ppm, en cerdos, requiriendo cinco por ciento menos de alimento los animales tratados. Jones et al.⁴⁷ también experimentaron en cerdos con este mismo ABA y con los mismos niveles, y observaron menos consumo de alimento en los cerdos tratados. Por su parte, Moser et al.,⁷⁴ utilizando el cimaterol a 0.25, 0.50 y 1.00 ppm, informan que tuvieron significancia a favor de los animales tratados para esta variable. Por último, cabe mencionar a Merkley y Garwood,⁶⁶ quienes también utilizaron estos mismos niveles, pero en otra especie, y los animales tratados consumieron menos cantidad de alimento que los no tratados.

CONVERSION ALIMENTICIA

En la conversión alimenticia, de igual manera que las dos variables discutidas anteriormente, sólo existieron diferencias significativas cuando se comparó el efecto de los sexos, resultando con mejor conversión alimenticia los machos.

El no efecto que se obtuvo en esta variable con la suplementación de clenbuterol, al comparar los

tratamientos, coincide con los resultados de Buyse et al.¹⁴ y Ricks et al.,⁸⁷ quienes tuvieron semejantes eficiencias cuando se comparó el testigo con el tratamiento donde se aplicó el ABA. De igual manera le sucedió a Moser et al.⁷⁴ y a Jones et al.,⁴⁷ quienes aplicaron cimaterol en cerdos y no obtuvieron diferencias en el comportamiento de la conversión alimenticia.

Por otra parte, también existen informes contrarios a los expuestos. Rickes et al.,⁸⁸ utilizaron L-644,969 en la alimentación de pollos de engorda. La conversión alimenticia; en los pollos tratados mejoró en un 15 por ciento en relación con los no tratados. En esta misma especie y utilizando clenbuterol como suplemento, Dalrymple et al.²⁸ encontraron en sus aves tratadas mejor conversión alimenticia, en varios experimentos. Por su parte, Cromwell et al.²² reportaron mejor eficiencia alimenticia en cerdos, tras la aplicación del ABA.

Eisen et al.:³⁶ utilizaron el mismo ABA, con las mismas dosis en dos razas, y resultó que en una sí obtuvieron diferencias significativas en cuanto a conversión alimenticia y en la otra no, cuando compararon a los animales tratados con los no tratados. Por lo tanto, se puede deducir que los ABA actúan diferente de acuerdo con factores como la raza, sexo y edad, como ya ha sido expuesto en los antecedentes.

SINTESIS DE PROTEINA

Los métodos para medir la síntesis de proteína por medio de la utilización de radiactividad han sido discutidos por Muramatsu et al.^{76,77,78} y Garlick et al.⁴⁵ entre otros. El tiempo de incorporación de los aminoácidos marcados (con radiactividad) cuando son inyectados vía intravenosa es muy rápido; hay que tener cuidado en esto, para considerar el tiempo de sacrificio del animal, ya que si se realiza prematuramente, posiblemente la proteína no sea incorporada en su totalidad, y si se sacrifica en forma tardía, la curva de incorporación comienza a disminuir. Para realizar este análisis, se aplicó el tiempo recomendado por McNurlan y Garlik.⁶⁴

En cuanto a los aminoácidos, los más utilizados como marcadores con radioactividad son la fenilalanina, leucina, lisina y treonina. Se seleccionó la fenilalanina porque es la más soluble; además, la cantidad de fenilalanina libre que se requiere, es menor que la de los otros aminoácidos (Garlick et al.⁴⁵). El cuidado que hay que tener con el manipuleo de este material es muy especial, no acostumbrado en los experimentos normales que se realizan dentro de la nutrición en medicina veterinaria. Se hace mención de esto porque, al preparar dicho material, la persona debe protegerse totalmente; tales sustancias no deben tener contacto con el cuerpo humano por ningún motivo, y todo el material utilizado se

debe entregar a una institución donde se trabaje con este tipo de sustancias, para su eliminación correcta. La contaminación con radiactividad en el ser humano puede permanecer hasta 600 años transmitiendo problemas genéticos de generación en generación. Sin embargo, la radiactividad que se utilizó, es de las más benignas.

El proceso que se siguió para verificar si hubo síntesis proteica fue descrito en material y métodos, y parte de él se realizó para eliminar paso a paso sustancias del tejido que no forman parte de las proteínas totales; dado que son los verdaderos compuestos donde terminó el proceso de formación de las proteínas.

Los resultados demostraron claramente que la síntesis proteica fue mejor en los animales tratados comparados con los no tratados.

Existen trabajos como los de Bergen et al.¹⁰ en que se registra el mismo comportamiento; han medido la síntesis proteica en cerdos utilizando los ABA, y obtuvieron 34.35% más de síntesis en los animales tratados. Young et al.¹¹⁴ también lo han confirmado, utilizaron cimaterol en vacas y sus resultados fueron superiores estadísticamente para los animales tratados. Sin embargo, Muranatsu et al.⁷⁶ no obtuvieron resultados favorables en aves tratadas con clenbuterol, posiblemente porque el experimento lo realizaron en el periodo de iniciación y, como se ha mencionado anteriormente, los ABA tienen su mayor efecto en la fase de finalización.

PORCENTAJE DE PROTEINA EN CANAL

El porcentaje de proteína en la canal en los pollos de engorda suplementados con clenbuterol fue estadísticamente superior (3.85% más) comparado con el testigo, y es explicable por los resultados obtenidos en este mismo trabajo con las otras variables, en las que se registró mayor proporción de masa muscular.

Cabe mencionar que Willian et al.¹¹² utilizaron clenbuterol en vacas y midieron el efecto de este producto sobre el porcentaje de proteína encontrando también diferencias estadísticas, pero con la variante de que estos investigadores lo calcularon en otras partes del cuerpo. Asimismo, Baker et al.² utilizaron 1.00, 10.00 y 100.00 ppm de clenbuterol en corderos y lograron aumentar el porcentaje de proteína en masa muscular, hasta un 10.6% más que el testigo. Este efecto también lo observaron Mills y Orcutt⁷¹ en otra especie animal, así como Rickes et al.⁸⁸ con otro ABA.

PORCENTAJE DE HUMEDAD EN CANAL

Los resultados estadísticos en cuanto al porcentaje de humedad en la canal de las aves experimentales no fueron significativamente diferentes entre tratamientos; lo que demuestra que aunque los ABA son parecidos a las hormonas estructural y funcionalmente, no tienen las mismas respuestas; esto se

menciona porque hay hormonas que reducen la deposición de grasa pero aumentan el contenido de agua en el organismo.⁶⁰

PORCENTAJE DE CENIZAS Y CANTIDAD DE CALCIO Y FOSFORO EN CANAL (mg/100g)

Los resultados de los porcentajes de cenizas y las cantidades de calcio y fósforo (mg/100) entre tratamientos no fueron diferentes entre tratamientos. Estos datos dan a entender que posiblemente los agonistas β -adrenérgicos no tienen mucha relación con la repartición de estos minerales; lo que está en contradicción con lo afirmado por Jones et al.,⁴⁷ quienes mencionan que las lesiones en las pezuñas de los cerdos disminuyen cuando estos animales son suplementados con clenbuterol, por una mejor utilización de los minerales.

F. CONCLUSIONES

De acuerdo con los resultados obtenidos de este segundo experimento, en el que se utilizó el clenbuterol a 1 ppm en pollos de engorda de 21 a 48 días de edad, se puede inferir que, en cuanto al peso corporal, el efecto del producto no demuestra un cambio estadístico porque su efecto se concentro más a eliminar grasa. De esta manera, no se reflejó en el peso total, dada la disminución de grasa.

El consumo de alimento fue menor para las hembras, respecto a machos, y es un hecho que éstas siempre consumen menos; sin embargo, las hembras tratadas numéricamente tuvieron un consumo menor quizás porque hacen mejor utilización del alimento por medio del clenbuterol. Aunque inexplicablemente, en el caso de los machos sucedió a la inversa.

La conversión alimenticia no fue diferente porque, el efecto del producto se manifiesta más en mejorar la calidad de la canal y no en aportar más peso.

En la canal se refleja una mejor síntesis de proteína para las aves tratadas; dado que el producto, al provocar la lipólisis, hace que los ácidos grasos terminen en el Ciclo de Krebs produciendo más ATP. Estos son utilizados en el organismo en mejorar la función de síntesis proteica, lo que originó un mayor porcentaje de proteína en la canal de las aves que consumieron clenbuterol.

Por lo que se refiere al porcentaje de humedad, las canales de las aves experimentales no mostraron diferencias, lo que demuestra que al disminuir la grasa en el organismo no aumenta ni disminuye el contenido de agua, favoreciendo con ello la calidad de la canal.

Finalmente, se observó que los minerales evaluados (Ca y P) no son retenidos con mayor cantidad en las canales por medio del uso del clenbuterol en los pollos de engorda. Sin embargo, en otros experimentos se

sugiere aplicar estos análisis en diferentes partes de la canal en aves que hayan consumido clenbuterol a 1 ppm, pues el producto puede en algunos casos dar mejores resultados a nivel local que a nivel general.

EXPERIMENTO III

A. HIPOTESIS

Las canales de las aves, suplementadas con clenbuterol en Experimento II, contienen menor porcentaje de grasa abdominal y extracto etéreo en canal, así como mayor lipólisis y menor lipogénesis.

B. OBJETIVO

En este experimento se evaluó en el Instituto Nacional de la Nutrición "Salvador Zubirán": el porcentaje de grasa abdominal,⁸⁶ de las aves que se extrajo y pesó; el porcentaje de extracto etéreo en canal, por medio del análisis bromatológico;¹ así como el efecto del clenbuterol sobre la lipólisis, determinando la cantidad de ácidos grasos en la circulación sanguínea.³² Por último, se evaluó la lipogénesis, con glucosa marcada analizando cuantos triglicéridos nuevos se formaron.

C. MATERIAL Y METODOS

En los pollos alimentados con clenbuterol de los 21 a los 48 días de edad (Experimento II), se tomó una muestra de 24 aves para evaluar el efecto del clenbuterol sobre la grasa depositada en abdomen y el

porcentaje de extracto etéreo en canal. También se obtuvo otra muestra (seis hembras y seis machos por tratamiento) para determinar el efecto del producto sobre la lipólisis y para lipogénesis (dos hembras y dos machos por tratamiento) en el Departamento de Biología de la Reproducción del Instituto Nacional de la Nutrición "Salvador Zubirán".

GRASA ABDOMINAL

Las aves fueron sacrificadas pesándolas previa e individualmente para calcular los rendimientos en porcentaje de la grasa abdominal.⁸⁵

EXTRACTO ETÉREO

Para calcular el porcentaje de extracto etéreo en la canal se siguió el procedimiento que señala el AOAC.

LIPOLISIS

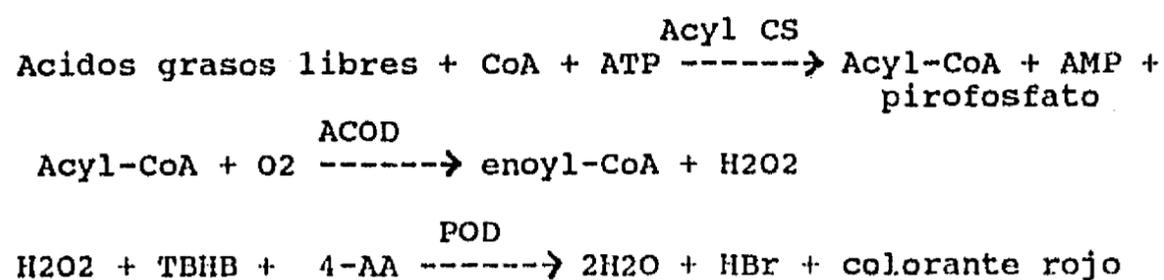
Para analizar si hubo efecto del clenbuterol sobre la lipólisis, (se determinó la concentración de ácidos grasos libres en la circulación sanguínea como se describe en el apéndice).^{58,101}

A 24 aves se les extrajo 5 ml de sangre a los 48 días de edad, y se separó el suero por centrifugación a 1800 rpm durante 15 minutos a 4°C; separado en

alícuota de 1.5 ml en tubos de Ependorff, y congelado a -20°C hasta su procesamiento.

Principio del método

En presencia de los ácidos grasos libres la enzima Acyl-CoA sintetasa es convertida por la adenosin-5'-trifosfato (ATP) y coenzima A (CoA) en acyl coenzima A (Acyl CoA), quedando adenosin -5'- monofosfato (AMP) y pirofosfato como productos. La Acyl CoA formada reacciona con el oxígeno (O₂) en presencia de Acyl CoA oxidasa (ACOD) para formar 2.3- enoyl-coenzima A (enoyl CoA) y peróxido de hidrógeno; el peróxido de hidrógeno (H₂O₂) convierte al 2,4,6- tribromo-3- hidroxibenzoico (TBHB) y la 4 aminoantipirina (4-AA), en presencia de peroxidasa (POD), a 2H₂O, HBr y un color rojo, el cual fue medido en un espectrofotómetro a un intervalo visible de 546 nm.



Al aplicar tal principio en este experimento, fue necesario reducir el volumen final a la quinta parte para obtener estas dosis, porque fue mayor el número de muestras. Además se usó ácido palmítico como estándar, quedando de la siguiente manera el procedimiento:

Pipeteado	Blanco	Muestra	Palmitico
mezcla A	0.400 ml	0.400 ml	0.400 ml
muestra	----	0.01 ml	0.01 ml
agua bidestilada	0.210 ml	0.200 ml	0.200 ml

Se colocaron los tubos de ensayo con estos compuestos en baño maría a 37°C durante 10 minutos, para luego leerla en espectrofotómetro, el resultado fue la absorvencia A1. Se continuó con:

mezcla B	0.020 ml	0.020 ml	0.020 ml
----------	----------	----------	----------

Nuevamente se colocaron los tubos de ensayo en baño maría de 10 a 15 minutos; al finalizar, se leyó de nuevo en el espectrofotómetro, y el resultado fue la absorvencia A2.

Se calcularon las diferentes absorvancias (A2 - A1) para blanco y muestra, restando la diferencia de absorvancia del blanco (ΔA_b) de la diferencia de absorvancia de la muestra (ΔA_s): esto resultó en ΔA .

$$\Delta A = \Delta A_s - \Delta A_b$$

La concentración se calculó de acuerdo con la siguiente fórmula general:

$$C = \frac{V \times F}{\gamma \times d \times v} \times \Delta A \text{ [mmol/l solución muestra]},$$

donde:

V = Volumen final (ml).

v = Volumen de muestra (ml).

d = Paso de luz.

F = Coeficiente de absorción del colorante a 546 nm

$$19.3 (1 \times \text{mmol}^{-1} \times \text{cm}^{-1})^3.$$

$$F = \text{Factor de dilución} = 1.026.$$

El factor de dilución fue calculado de la gravedad específica del suero de pollos de engorda a la séptima semana ($p = 1.099 \text{ g/ml}$) y de la fracción de líquido del suero (93.4%) = 0.934).⁵⁸

$$F = 1.099 \times 0.934 = 1.026$$

$$C = \frac{0.63 \times 1.026}{19.3 \times 1 \times 0.01} \times 3.3666 = 3.349$$

LIPOGENESIS

Para evaluar la lipogénesis fue preciso analizar la síntesis de triglicéridos por medio de la incorporación de glucosa marcada a triglicéridos. Esta glucosa se inyectó a ocho aves 30 minutos antes del sacrificio en el ala izquierda, vía intravenosa, la dosis de $3.125 \mu\text{Ci}$ de D-(U-¹⁴C) glucosa de alta actividad específica de 1.52 mCi/mg y con concentración radiactiva de 200 nCi/ml (de los laboratorios Amersham International). Se utilizó como acarreador glucosa fría a una concentración de mg . De este compuesto se inyectó a las aves 3.123 mg por cada 100 g de peso vivo. 30 minutos después de la inyección, fueron sacrificadas por medio de dislocación cervical, para inmediatamente ser congeladas en hielo seco y acetona con todo y plumas. De esta forma se conservaron en una cámara de congelación a -20°C hasta su procesamiento.

Las canales se cortaron en pequeñas partes y se molieron en un molino de carne marca Hobart evitando su descongelación.

De la carne molida se tomó una muestra de 1g, a la que se le hizo la extracción de grasa con 50 ml de éter por medio del método de Goldfish. Una vez extraída la grasa, se pesó y se mezcló con 5 ml de cloroformo/Metanol : H₂O (2 : 1 : 0.75); se tomó 1 ml, se mezcló con 1 ml de cloruro de potasio al .88% y se agitó; se separó la fase acuosa de la lipida y se lavó dos veces con la misma solución; el extracto se evaporó a sequedad con cloroformo. A este extracto se le agregó 1 ml de cloroformo y se tomó 0.2 ml para medir la radiactividad por medio del contador de centelleo líquido (Packard Tri-Carb 300) por 10 minutos, utilizando tolueno centellante que contuvo 2 g de 2,5-difenil-oxazole (PPO) y 50 mg de 1,4 bis (2 - (5difenil-oxazolil) benceno) (POPOP)/litro.

Para analizar los datos estadísticamente, se siguió el mismo planteamiento de diseño que en el Experimento II.

D. RESULTADOS

En el Cuadro 15 se muestra, los análisis de varianza donde están los cuadrados medios de los valores correspondientes al peso porcentual de la grasa abdominal, al porcentaje de extracto etéreo evaluado de

la canal, así como, a los mmol/l de la lipólisis y los dpm de la lipogénesis, en grasa de pollos de engorda, al terminar el periodo de finalización.

Los análisis obtenidos, indicaron diferencias altamente significativas ($P < 0.01$) debido al clenbuterol en las tres primeras variables y diferencias significativas ($P < 0.05$) para lipogénesis. Al analizar el efecto estadístico sobre el sexo, sólo se encontraron diferencias altamente significativas en el peso porcentual de la grasa abdominal y el porcentaje de extracto etéreo. Finalmente, la interacción mostró también diferencias altamente significativas en la grasa abdominal y la lipólisis.

CUADRO 15
ANÁLISIS DE VARIANZA PARA GRASA ABDOMINAL, EL PORCENTAJE DE EXTRACTO ETÉREO, LIPOLISIS Y LIPOGENESIS EN POLLOS DE ENGORDA A LOS 48 DIAS DE EDAD

Origen de variación	gl.	Cuadrados medios			
		Grasa abdominal	Extracto etéreo	Lipólisis	Lipogénesis
Tratamientos	3	0.0309	6.9449	0.4317	128821
Clenbuterol	(1)	0.0657**	18.2533**	0.8164**	3161107*
Sexo	(1)	0.0224**	2.3232**	0.0184	338822
C x S	(1)	0.0047**	0.2581	0.4602**	364705
Error	8	0.0001	0.1272	0.0048	980842

* = Diferencias significativas ($P < 0.05$)

** = Diferencias altamente significativas ($P < 0.01$)

C x S = Clenbuterol por sexo

Los resultados en cuanto al porcentaje de extracto etéreo y de grasa abdominal, obtenidos a los 48

días de edad de los pollos experimentales, se presentan resumidos en el Cuadro 16. Se puede ver que el porcentaje de grasa en la canal fue menor con clenbuterol ($P < 0.01$) también se observa que el contenido del extracto etéreo fue inferior en los machos respecto a las hembras.

CUADRO 16
MEDIAS GENERALES SOBRE LOS PORCENTAJES DE GRASA ABDOMINAL
Y EXTRACTO ETÉREO EN LA CANAL DE POLLOS DE ENGORDA A LOS
48 DIAS DE EDAD

	Grasa abdominal %			Extracto etéreo %		
	Machos	Hembras	Medias	Machos	Hembras	Medias
N.	0.84 ^c	1.15 ^d	1.00	5.77	6.36	6.07 ^b
T.	0.60 ^a	0.70 ^b	0.65	3.01	4.19	3.60 ^a
Medias	0.72	0.93		4.39 ^a	5.28 ^b	

a, b, c, d = Valores con distinta literal representan diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.01$)

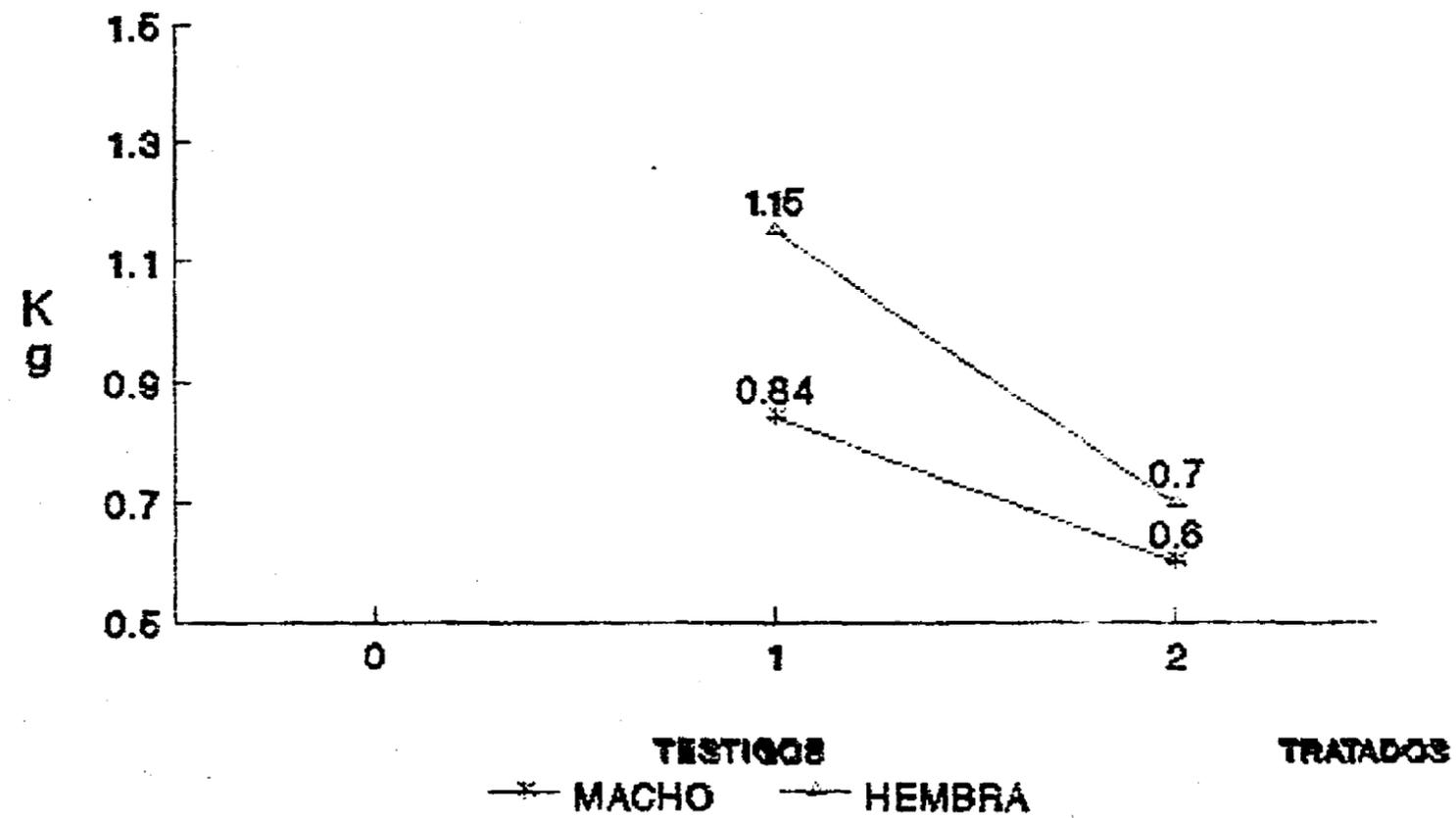
N. = Corresponde al tratamiento testigo donde no se aplicó el clenbuterol

T. = Corresponde al tratamiento de las aves donde se aplicó el clenbuterol

De igual manera se presentaron diferencias altamente significativas ($P < 0.01$) en el depósito de grasa abdominal. Se puede apreciar claramente que cuando se aplicó el clenbuterol tanto en los machos como en las hembras fue menor el contenido de grasa abdominal, inclusive las hembras con clenbuterol tuvieron menos grasa que los machos del tratamiento testigo, las que

GRAFICA 2

POCENTAJE DE GRASA ABDOMINAL EN POLLOS
DE ENGORDA TRATADOS Y NO TRATADOS
SUPLEMENTADOS CON CLENBUTAL DE 21 A 48 D



tuvieron mayor cantidad fueron las hembras, también del tratamiento testigo (Gráfica 2).

En el Cuadro 17 se registran los promedios correspondientes a los resultados obtenidos del efecto de lipólisis y lipogénesis en las aves experimentales.

Para la medición de la lipólisis, las aves que presentaron mayor degradación de grasa fueron las hembras del tratamiento donde se aplicó el producto, después estuvieron los machos de los dos tratamientos y, finalmente, las que degradaron menos grasa fueron las hembras del tratamiento testigo (Gráfica 3).

Las aves experimentales alimentadas con clenbuterol presentaron diferencias significativas ($P < 0.05$) en cuanto a lipogénesis, resultando menor síntesis de grasa el tratamiento con adición del beta adrenérgico.

CUADRO 17
MEDIAS GENERALES SOBRE LOS RESULTADOS DE LA LIPOLISIS Y LIPOGENESIS EN POLLOS DE ENGORDA A LOS 48 DIAS DE EDAD

	Lipólisis mm/l			Lipogenesis dpm		
	Machos	Hembras	Medias	Machos	Hembras	Medias
N.	1.79 ^b	1.47 ^a	1.63	3250	4250	3750 ^b
T.	1.92 ^b	2.39 ^b	2.16	2650	2750	2700 ^a
Medias	1.86	1.93		2950 ^a	3500 ^a	

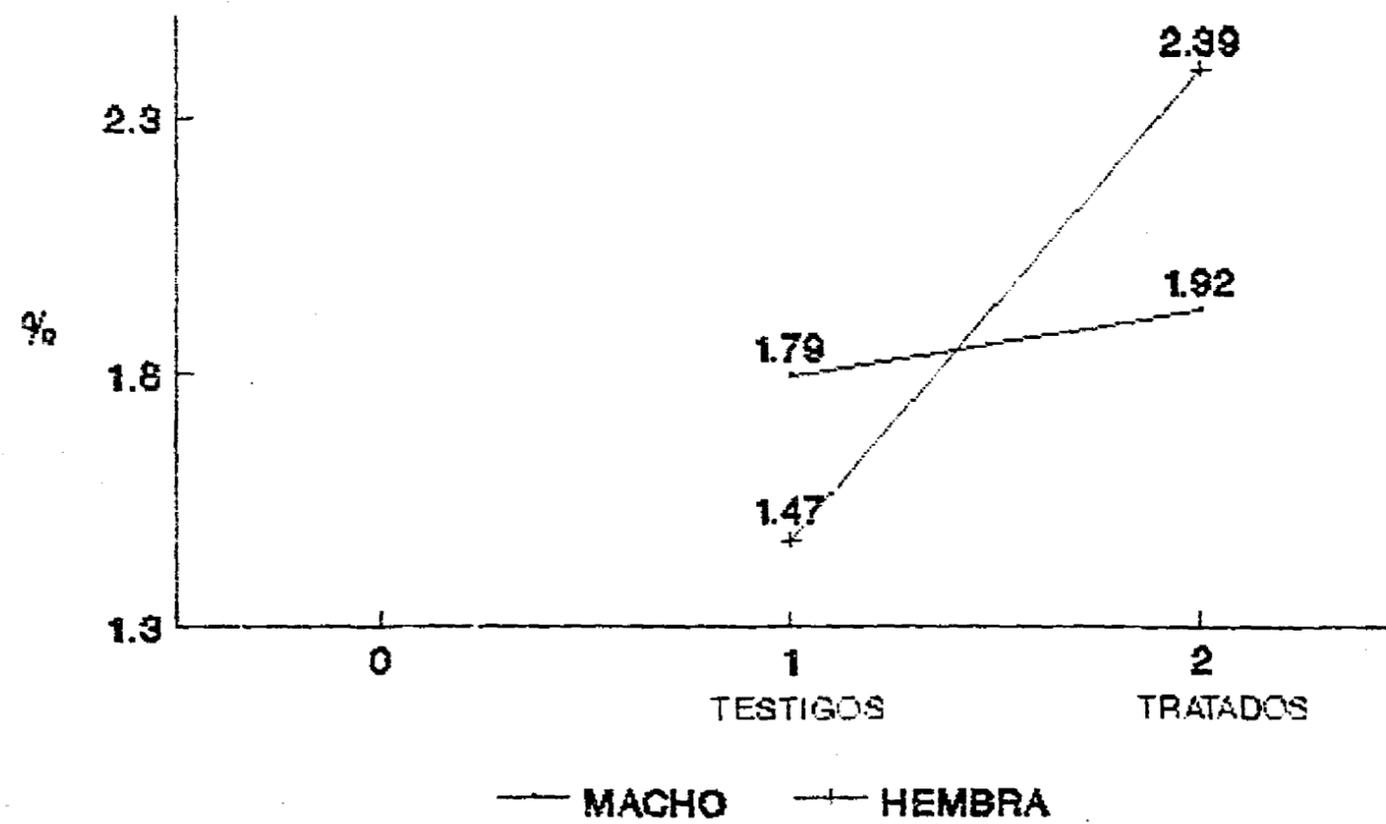
a, b, c = Valores con distinta literal representan diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.05$)

N. = Corresponde al tratamiento testigo donde no se aplicó el clenbuterol

T. = Corresponde al tratamiento de las aves donde se aplicó el clenbuterol

GRAFICA 3

EFFECTO DE LIPOSIS EN POLLOS DE ENGORDA
NO TRATADOS Y TRATADOS CON GLENBUTEROL
DE 21 A 48 DIAS DE EDAD



E. DISCUSION

GRASA ABDOMINAL Y EXTRACTO ETereo

Los datos obtenidos respecto a la deposición de la grasa abdominal y del extracto etéreo en la canal coinciden en cuanto al efecto del producto sobre sexo y tratamiento. Al evaluar el efecto sobre sexo (Cuadro 16), se puede notar que los machos siempre obtuvieron menor porcentaje de grasa que las hembras. Esto está apoyado por Becker et al.,³ quienes han mostrado en sus experimentos diferencias en el porcentaje de grasa abdominal entre sexos.

Asimismo, en cuanto al efecto del producto, coinciden los resultados de las dos variables: el tratamiento donde se aplicó el clenbuterol tuvo 35% menos de grasa abdominal que el testigo, y los resultados de extracto etéreo fueron mayores para el testigo en un 40.7% comparados con los tratados.

De estas dos variables, en la de grasa abdominal se encontró interacción, mostrando las hembras testigo un depósito desproporcionalmente mayor a los demás, siendo los machos tratados los que aportaron menor porcentaje de grasa abdominal, casi comparable a los de las hembras tratadas.

Estos resultados obtenidos en menor deposición de grasa, están apoyados por los de otros experimentos (Dalrymple et al.,²⁵ en pollos de engorda; Baker et al.,²

en corderos; Ricks et al.,⁸⁹ en cerdos; y Emery et al.,³⁷ en roedores).

LIPOLISIS

La evaluación del fenómeno de lipólisis se hizo determinando los ácidos grasos en la circulación sanguínea; ya que parte de los triglicéridos, al ser liberados por efecto de lipólisis, antes de ser oxidados, se encuentran en forma libre en el suero sanguíneo.

En este trabajo, se investigó si la disminución de la grasa corporal estaba relacionada con una mayor lipólisis causada por los ABA. Así, al comparar el contenido de ácidos grasos en suero de las aves testigo con el de las tratadas, los resultados fueron de 24.5% más para las tratadas; esto quiere decir que hubo mayor degradación de grasa en las aves tratadas con clenbuterol. Cuando se comparó los promedios obtenidos, entre sexos no hubo diferencias estadísticas; pero la interacción si lo fue, se pudo apreciar el fenómeno que se esperaba favorable a los machos, y es que éstos normalmente presentan mayor lipólisis que las hembras porque retienen menos grasa que ellas. Sin embargo, ese efecto sólo se evidenció numéricamente en el tratamiento testigo. Cuando se aplicó el producto las hembras tuvieron mayor lipólisis que los machos. Esto se puede explicar dado que las hembras, como tienen mayor porcentaje de grasa, por el efecto del producto tuvieron

más grasa para degradar y, por lo tanto, los ABA tuvieron mayor efecto en las hembras que en los machos, como se observó en los resultados; siendo este el motivo por el cual se presentó el efecto de interacción.

Por su parte, Campbell et al.¹⁵ y Scanes et al.⁹⁹ han informado también mayor lipólisis en aves tratados, utilizando otro ABA (isoproterenol); los investigadores encontraron con este producto hasta un 46.7% más de lipólisis en las aves. Otro estudio con resultados similares fue el de Merkley y Garwood et al.⁶⁶ quienes utilizaron cimaterol en una línea de aves de engorda y demostraron, con sus resultados, una mayor lipólisis por el β -adrenérgico. Por último, cabe mencionar que Rosebrough et al.⁹⁵ utilizaron isoproterenol para un experimento in vitro con tejido de pollos de engorda, y observaron, una mayor lipólisis para los tratados. Varios autores están que han obtenido mayor lipólisis, en especies diferentes, estimulada por los β -adrenérgicos (Eadara et al.³⁴ Mersmann,⁶⁷ Mersmann et al.⁶⁸ Smith et al.¹⁰³ y Peterla et al.⁸⁴).

LIPOGENESIS

Para valorar el efecto del producto sobre la lipogénesis, se utilizó radiactividad. Se fue purificando el tejido hasta quedar con sólo triglicéridos, que son los que conforman la grasa neutra y constituyen el fin del proceso de síntesis de las grasas.

La forma de evaluar si hubo mayor o menor efecto del clenbuterol sobre la lipogénesis, (véase en material y métodos); fue por verificación de cuánta de la glucosa marcada en el C^{14} se instaló en los triglicéridos. De menor lipogénesis, menor cantidad de esta glucosa en triglicéridos.

Se encuentran diferencias estadísticas entre los tratamientos. Las aves tratadas se encontro un menor dpm, lo que significa que tuvieron menor glucosa menor y síntesis de triglicéridos que las que no se les adicionó el ABA. Los resultados mostraron un comportamiento muy parecido a lo que se ha informado, pues este efecto ha sido demostrado anteriormente por otros investigadores al aplicar β -adrenérgicos, tanto en pollos como en especies diferentes. Por ejemplo, Rosebrough et al.⁹⁴ y Harvey y Scanes⁵⁰ publicaron resultados de sus trabajos realizados en pollos de engorda; a Hu et al.,⁵⁶ en corderos; y a Orcutt et at.,⁸³ en roedores.

F. CONCLUSIONES

El menor contenido de grasa abdominal, en la canal en pollos de engorda suplementados con clenbuterol de 21 a 48 días de edad, indica una mejor calidad de la canal para las aves tratadas. Este efecto favorable en todo el cuerpo del ave: para menor acumulación de tejido adiposo, fue resultado de una mayor degradación de grasa

(lipólisis) y menor formación de la misma (lipogénesis), fue mayor en hembras que en los machos, debido a que las hembras son acumulan más grasa. De lo anterior se puede inferir que la canal de estos animales tendrá una mayor aceptación del público, porque será menor el riesgo de que causen problemas en la nutrición humana, así como por tener mayor porcentaje de carne magra.

EXPERIMENTO IV

A. HIPOTESIS

Las aves alimentadas con clenbuterol tienen un mayor rendimiento en peso en la pechuga, muslo y pierna, debido a una hipertrofia muscular. Este mayor rendimiento se debe al mayor diámetro de las células musculares y de los fascículos así como al mayor número de miofilamentos por miofibrilla.

B. OBJETIVO

Se evaluó, el efecto del clenbuterol sobre: el rendimiento de las porciones (pechuga, muslo y pierna); además de la hipertrofia muscular, determinando el diámetro de las células y los fascículos, midiéndolos por medio de microscopía de luz, así como, con el número de miofilamentos por miofibrilla por medio de un microscopio electrónico.

C. MATERIAL Y METODOS

Se utilizaron 24 pollos suplementados con 0 y 1 ppm de clenbuterol, al finalizar el Experimento II para analizar, el efecto del clenbuterol sobre la hipertrofia muscular en pechugas, muslos y piernas (diámetro del fascículo, diámetro de las células, número de miofilamentos por miofibrilla) en el laboratorio de microscopía electrónica de la FMVZ de la UNAM. Además, se

evaluó el efecto del producto sobre el rendimiento de pechuga, muslo y pierna. Para ello, las 24 aves (mitad hembras y mitad machos) fueron pesadas previamente, una por una. Las primeras doce se sacrificaron inyectándoles aire en la vena del ala; inmediatamente después se les hizo una incisión en el músculo de la pechuga, pierna y muslo, para extraer una pequeña porción de muestra muscular (0.1 g). Estas muestras fueron fijadas con glutaraldehído al 3% en amortiguador de fosfato a un pH de 7.2 - 7.4 más cloruro de Ca al 1% como lo señala Sabatin et al.⁹⁷ a 38°C, mientras se cortaban en porciones más pequeñas. Los cortes se colocaron en frascos correspondientes a cada muestra, que contenían glutaraldehído al 3% fresco a temperatura de 4°C durante 2:30 hrs. Al cumplir este tiempo, en tres ocasiones se efectuaron tres lavados con solución lavadora (a base de amortiguador de fosfatos más sacarosa), para llevarse a cabo la osmificación con tetraóxido de osmio al 1%, en amortiguador de fosfato a 4°C; nuevamente se lavan tres veces en solución lavadora.

Posteriormente se procedió con la deshidratación, con acetonas a porcentajes de 50, 60, 70, 80 y 90 % durante diez minutos cada muestra, y al 100% con tres cambios de 10 minutos cada una. Se continuó con infiltración utilizando epon diluido con acetona en proporción 1 a 1, por una hora, en frasco tapado. Al cabo de esta hora, se destapó el frasco para permitir la

volatilización de la acetona y con esto la concentración del medio de inclusión en campana con silica durante 24 horas. Posteriormente se realizó la inclusión con solución final de epón⁶¹ y se mantuvo en la estufa a 63°C durante 24 horas para su polimerización.

Una vez que estuvo lista la inclusión, se preparó la pirámide para realizar los cortes en el ultramicrotomo. Se hicieron cortes de una micra de grosor (semifino), se montaron sobre el porta objeto, se fijaron al calor por unos segundos y se tiñeron con azul de toluidina⁵³ en tetraborato de Na al 1% (borax); después de eliminar la saturación de colorante con alcohol al 96%, se diferenciaron en toluol y en xilol cresota, montándolos en seguida con resina sintética.

Para realizar las valoraciones y promedios del diámetro de cada célula o fibra muscular, se hicieron observaciones a través del microscopio de luz; además, se utilizaron las mismas laminillas para seleccionar las áreas de corte fino (50 a 80 am) que se montaron en rejillas de cobre de 400 mesh, y se observaron a través del microscopio electrónico de transmisión (C. Zeiss EM - 900) que permite valorar los miofilamentos en las miofibrillas como se puede apreciar en la foto 1.

Por otro lado, después de que se extrajeron las muestras de las primeras doce aves, para analizar si hubo hipertrofia muscular, se sacrificaron las otras doce resotantes (por medio de sangrado); una vez desangrados

se extrajeron y pesaron las pechugas, los muslos y las piernas, y se calculó el peso porcentual con relación al peso vivo, en cada una de las 24 aves.

El análisis estadístico de las variables en estudio se realizó de igual manera conforme el diseño empleado en el Experimento II.

D. RESULTADOS

El Cuadro 18 muestra los análisis de varianza para el peso porcentual de las pechugas, muslos y piernas de los pollos de engorda, alimentados con o sin clenbuterol durante el periodo de finalización. Los análisis, de los resultados obtenidos a los 48 días de edad de las aves experimentales, indicaron que existieron diferencias altamente significativas ($P < 0.01$) debido al producto en las tres variables. Entre

CUADRO 18
ANÁLISIS DE VARIANZA PARA RENDIMIENTO PORCENTUAL DE
PECHUGA, MUSLO Y PIERNA, EN POLLOS DE ENGORDA A LOS 48
DÍAS DE EDAD

Origen de variación	gl.	Cuadrados medios		
		Pechuga	Muslo	Pierna
Clenbuterol	(1)	7.4639**	0.2274**	0.7998**
Sexo	(1)	0.1723*	0.0065	1.1794**
C x S	(1)	1.3763**	0.0103	0.0073
Error	8	0.0268	0.0112	0.0130

** = Diferencias altamente significativas ($P < 0.01$)

* = Diferencias significativas ($P < 0.05$)

C x S = Clenbuterol por sexo

sexos se encontraron diferencias altamente significativas en el peso de las pechugas y las piernas. Finalmente, la interacción resultó altamente significativa solamente en el peso de la pechuga.

Los promedios de rendimiento porcentual en pechugas y muslos se exponen en el Cuadro 19. En la pechuga hubo un aumento en rendimiento ($P < 0.01$) con clenbuterol. Se nota menor porcentaje en pechuga en las hembras del tratamiento testigo, con un poco más los machos del mismo tratamiento. Es evidente un mayor rendimiento donde se empleó el clenbuterol; las hembras de este tratamiento fueron las que tuvieron mayor porcentaje en las pechugas. Cuando se ven los datos de rendimiento en muslo se notan diferencias significativas ($P < 0.01$) pesando más los muslos de las aves no tratadas.

CUADRO 19
MEDIAS GENERALES PARA RENDIMIENTO PORCENTUAL DE LAS
PECHUGAS Y LOS MUSLOS EN LOS POLLOS DE ENGORDA A LOS 48
DÍAS DE EDAD

	pechuga %			muslo %		
	Machos	Hembras	Medias	Machos	Hembras	Medias
N.	16.94 ^b	15.96 ^a	16.45	10.75	10.86	10.81 ^a
T.	17.78 ^c	18.18 ^d	17.98	10.54	10.53	10.54 ^b
Medias	17.36	17.07		10.65 ^a	10.70 ^a	

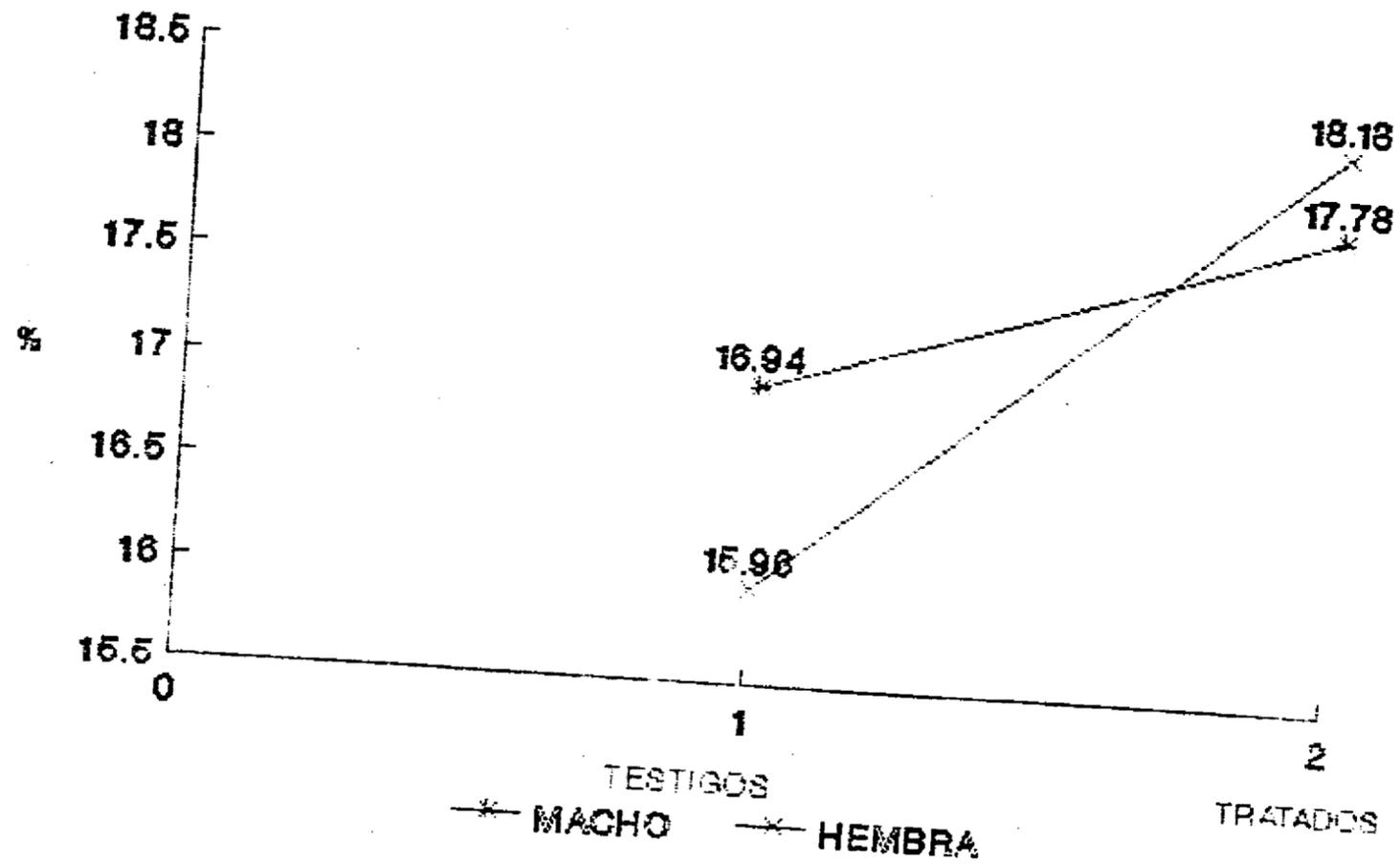
a, b, c, d = Valores con distinta literal representan diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.01$)

N. = Corresponde al tratamiento testigo donde no se aplicó el clenbuterol

T. = Corresponde al tratamiento de las aves donde se aplicó el clenbuterol

GRAFICA 4

PESO PORCENTUAL EN PECHUGAS DE POLLOS DE ENGORDA QUE SE SUPLEMENTARON CON GLENBUTEROL EN FINALIZACION



Los promedios del rendimientos porcentual en cuanto a las piernas se presentan en el Cuadro 20. Se pueden apreciar diferencias ($P < 0.01$) entre tratamientos, pesando más las piernas de las aves tratadas; así como en la evaluación de efecto del sexo ($P < 0.01$), teniendo mayor peso las piernas de los machos.

CUADRO 20
MEDIAS GENERALES PARA RENDIMIENTO PORCENTUAL DE LAS
PIERNAS Y EL DIÁMETRO DE LOS FASCÍCULOS EN LAS PECHUGAS
DE LOS POLLOS DE ENGORDA A LOS 48 DÍAS DE EDAD

	pierna %			Diámetro de los fascículos en pechuga		
	Machos	Hembras	Medias	Machos	Hembras	Medias
N.	10.23	9.65	9.94 ^b	163	166	165 ^b
T.	10.80	10.12	10.46 ^a	360	257	309 ^a
Medias	10.52 ^a	9.89 ^b		262 ^b	212 ^a	

a, b = Valores con distinta literal representan diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.05$)

N. = Corresponde al tratamiento testigo donde no se aplicó el clenbuterol

T. = Corresponde al tratamiento de las aves donde se aplicó el clenbuterol

En el Cuadro 21 se muestra el análisis de varianza de las medias evaluadas del diámetro de los fascículos en pechuga, muslo y pierna de los pollos de engorda a los 48 días de edad.

CUADRO 21
 CUADRADOS MEDIOS DEL DIAMETRO (micras) DE LOS FASCICULOS
 EVALUADOS EN PECHUGAS, MUSLOS Y PIERNAS DE LAS AVES A LOS
 48 DIAS DE EDAD

Origen de variación	gl.	Cuadrados medios		
		Pechuga	Muslo	Pierna
Clenbuterol	(1)	62064.08**	33.33	45880.33*
Sexo	(1)	7350.75*	4485.33*	280.33
C x S	(1)	8374.08	5.33	176.33
Error	8	1889.25	3063.33	4943.33

** = Diferencias altamente significativas ($P < 0.01$)

* = Diferencias significativas ($P < 0.05$)

C x S = Clenbuterol por sexo

En el ANOVA se aprecia que existieron diferencias estadísticas ($P < 0.05$) al evaluar el efecto del clenbuterol sobre los tratamientos en las variables pechuga y pierna. En cuanto al efecto sobre sexo, hubo diferencias estadísticas ($P < 0.05$) para las variables pechuga y muslo.

Los resultados (Cuadro 20) correspondientes a los promedios sobre diámetro de los fascículos en las pechugas de las aves experimentales, muestran diferencias altamente significativas ($P < 0.01$), resultando que los pollos del tratamiento en que se aplicó el producto tuvieron mayor diámetro en sus fascículos. En cuanto al efecto de sexo, también hubieron diferencias, siendo de mayor diámetro los fascículos de los machos. Por lo que respecta a los promedios en muslos y piernas (Cuadro 22), se encontraron diferencias estadísticas ($P < 0.05$) para la segunda variable en función del tratamiento, logrando

mayor diámetro los pollos de engorda que recibieron el clenbuterol. Al observar el efecto sobre sexo, se nota que se encontraron diferencias estadísticas ($P \mu 0.0$) en pierna teniendo mayor diámetro los fascículos de las hembras respecto a los machos.

CUADRO 22
 MEDIAS GENERALES SOBRE EL DIAMETRO DE LOS FASCICULOS DE LAS PIERNAS Y DE LOS MUSLOS EN POLLOS DE ENGORDA A LOS 48 DIAS DE EDAD

	Diámetro del fascículo en muslo			Diámetro del fascículo en pierna		
	Machos	Hembras	Medias	Machos	Hembras	Medias
N.	211	249	230 ^a	259	276	268 ^b
T.	207	247	227 ^a	390	375	383 ^a
Medias	209 ^a	248 ^b		325 ^a	326 ^a	

a, b = Valores con distinta literal representan diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.05$).

N. = Corresponde al tratamiento testigo donde no se aplicó el clenbuterol.

T. = Corresponde al tratamiento de las aves donde se aplicó el clenbuterol.

Los resultados de los análisis de varianza del Cuadro 23, se sintetiza la evaluación del diámetro de las células o fibras musculares de las pechugas, los muslos y las piernas de pollos de engorda, a los 48 días de edad. Se encontraron diferencias altamente significativas debidas al clenbuterol ($P < 0.01$) para la primera y la última variable. Seguidamente, en el análisis del efecto sobre sexo, se aprecian diferencias estadísticas ($P <$

0.01) únicamente para la variable pechuga, y de igual manera, en la interacción clenbuterol por sexo.

CUADRO 23
ANÁLISIS DE VARIANZA DEL DIÁMETRO DE LAS CELULAS MUSCULARES EVALUADAS EN PECHUGA, MUSLO Y PIERNA DE LAS AVES A LOS 48 DÍAS DE EDAD

Origen de variación	gl.	Cuadrados medios		
		Pechuga	Muslo	Pierna
Clenbuterol	(1)	294.03**	1.92	808.52**
Sexo	(1)	74.00**	63.48	0.91
C x S	(1)	221.88**	0.05	13.44
Error	8	3.84	19.86	52.84

** = Diferencias altamente significativas ($P < 0.01$)
C x S = Clenbuterol por sexo

CUADRO 24
MEDIAS GENERALES SOBRE EL DIÁMETRO (micras) DE LAS CELULAS DE LAS PECHUGAS Y DE LOS MUSLOS EN POLLOS DE ENGORDA A LOS 48 DÍAS DE EDAD

	Diámetro de las células en pechuga			Diámetro de las células en muslo*		
	Machos	Hembras	Medias	Machos	Hembras	Medias
N.	25.5 ^a	21.8 ^a	23.65	26.9	31.3	29.1
T.	26.8 ^a	40.3 ^b	33.55	25.8	30.7	28.3
Medias	26.2	31.1		26.4	30.8	

a, b = Valores con distinta literal representan diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.05$)

* = No se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($P > 0.05$)

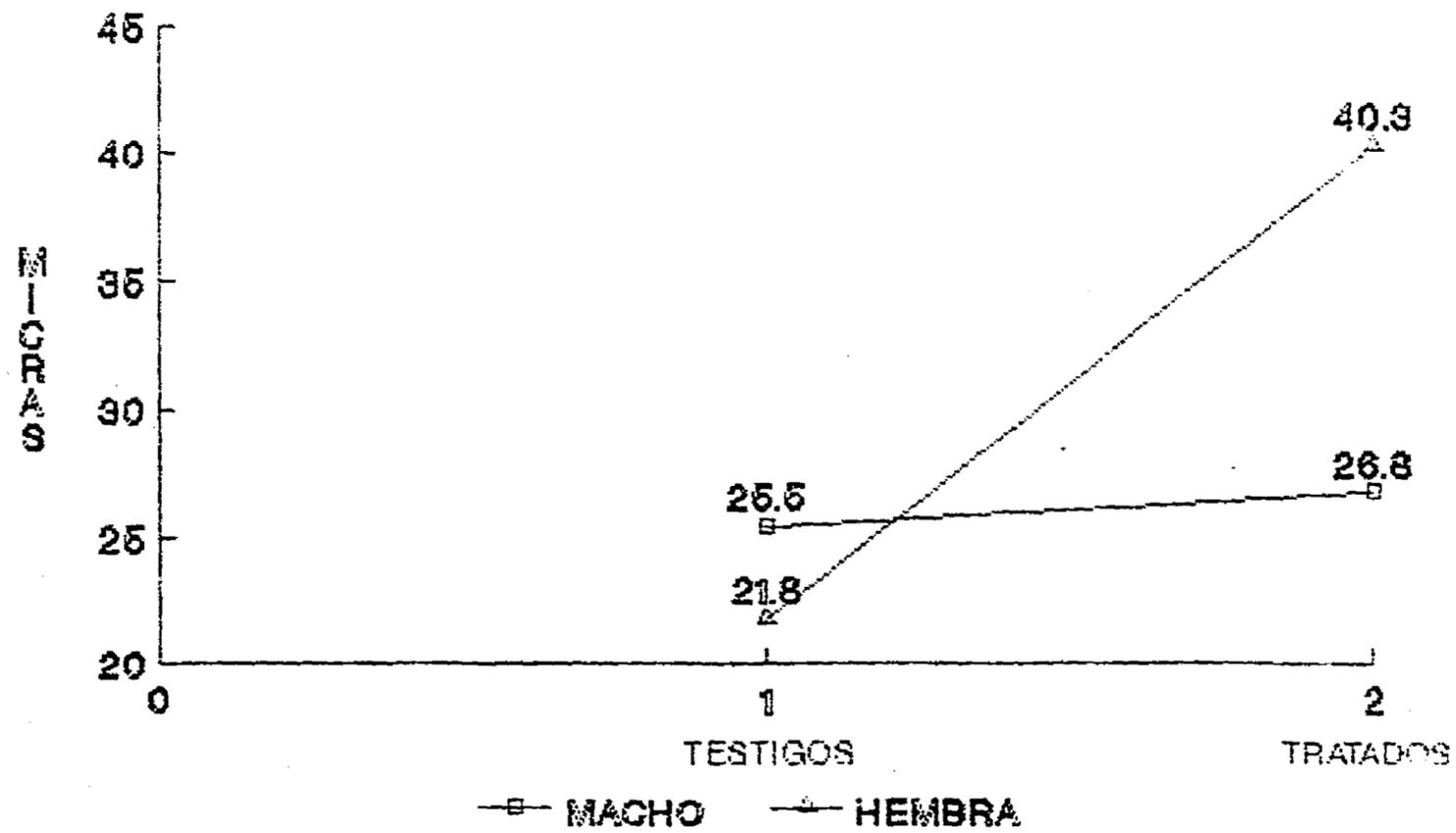
N. = Corresponde al tratamiento testigo donde no se aplicó el clenbuterol

T. = Corresponde al tratamiento de las aves donde se aplicó el clenbuterol

Para las fibras musculares, se puede apreciar claramente que las células en las pechugas en las hembras

GRAFICA 5

**DIAMETROS OBTENIDOS EN CELULAS EVALUADAS
EN PECHUGA DE POLLO DE ENGORDA DE 21 A
48 DIAS DE EDAD**



tratadas fueron las más anchas y diferentes estadísticamente a todas las demás. Este comportamiento de interacción se aprecia en la Gráfica 5. Para las fibras musculares en muslo no se detectaron diferencias entre tratamientos.

En el Cuadro 24 se presentan los promedios correspondientes a las variables diámetro de células de las pechugas y de los muslos en pollos de engorda a los 48 días de edad.

CUADRO 25
 MEDIAS GENERALES SOBRE EL DIAMETRO DE LAS CELULAS DE LAS
 PIERNAS (micras) Y EL NUMERO DE MIOFILAMENTOS POR
 MIOFIBRILLA EN LAS PECHUGAS DE LOS POLLOS DE ENGORDA A
 LOS 48 DIAS DE EDAD

pechuga	Diámetro de las células en pierna			Número de miofilamentos por miofibrilla en		
	Machos	Hembras	Medias	Machos	Hembras	Medias
N.	26.8	28.3	27.6 ^a	44 ^b	29 ^a	37
T.	45.3	42.6	44.0 ^b	43 ^b	41 ^b	42
Medias	36.1 ^a	35.5 ^a		44	35	

a, b = Valores con distinta literal representan diferencias estadísticamente significativas (P < 0.01)

N. = Corresponde al tratamiento testigo donde no se aplicó el clenbuterol

T. = Corresponde al tratamiento de las aves donde se aplicó el clenbuterol

Por los que respecta a los datos correspondientes a la variable diámetro de las células de las piernas en pollos de engorda a los 48 días de edad, tales promedios se exponen en el Cuadro 25. Se puede

apreciar que hubieron diferencias ($P < 0.01$), siendo mejor los tratamientos donde se aplicó el clenbuterol.

En el Cuadro 26 se muestra los datos de los análisis de varianza para el número de miofilamentos por miofibrilla en pechugas, muslos y piernas de pollos de engorda a los 48 días de edad.

El análisis estadístico mostró que existieron diferencias altamente significativas ($P < 0.01$) para las tres variables por efecto del clenbuterol, así como del sexo. Pero cuando se evaluó el efecto de la interacción producto por sexo sólo en el número de miofilamentos la pechuga fue significativa ($P < 0.01$).

CUADRO 26
ANÁLISIS DE VARIANZA PARA EL NÚMERO DE MIOFILAMENTOS POR MIOFIBRILLA EN PECHUGAS, MUSLOS Y PIERNAS DE LAS AVES EXPERIMENTALES EN EL PERIODO DE FINALIZACIÓN

Origen de variación	Cuadrados medios			
	gl.	Pechuga	Muslo	Pierna
Clenbuterol	(1)	108.00**	102.08**	
Sexo	(1)	208.33**	270.75**	
C x S	(1)	120.33**	6.75	6.75
Error	8	6.25	2.92	2.50

** = Diferencias altamente significativas ($P < 0.01$)
C x S = Clenbuterol por sexo

Los promedios obtenidos (Cuadro 25) en cuanto al número de miofilamentos por miofibrilla en pechuga, de las aves experimentales. Se puede ver que las pechugas de

las hembras testigo aportaron menor número de miofilamentos por miofibrilla comparados con los demás grupos.

CUADRO 27
 MEDIAS GENERALES SOBRE EL NUMERO DE MIOFILAMENTOS POR MIOFIBRILLA EN MUSLOS Y PIERNAS EN POLLOS DE ENGORDA A LOS 48 DIAS DE EDAD

	Número de miofilamentos por miofibrilla en muslo			Número de miofilamentos por miofibrilla en pierna		
	Machos	Hembras	Medias	Machos	Hembras	Medias
N.	42	50	46 ^a	30	41	36 ^b
T.	35	46	41 ^b	37	46	42 ^a
Medias	39 ^b	48 ^a		34 ^b	44 ^a	

a, b = Valores con distinta literal representan diferencias

estadísticamente significativas ($P < 0.05$)

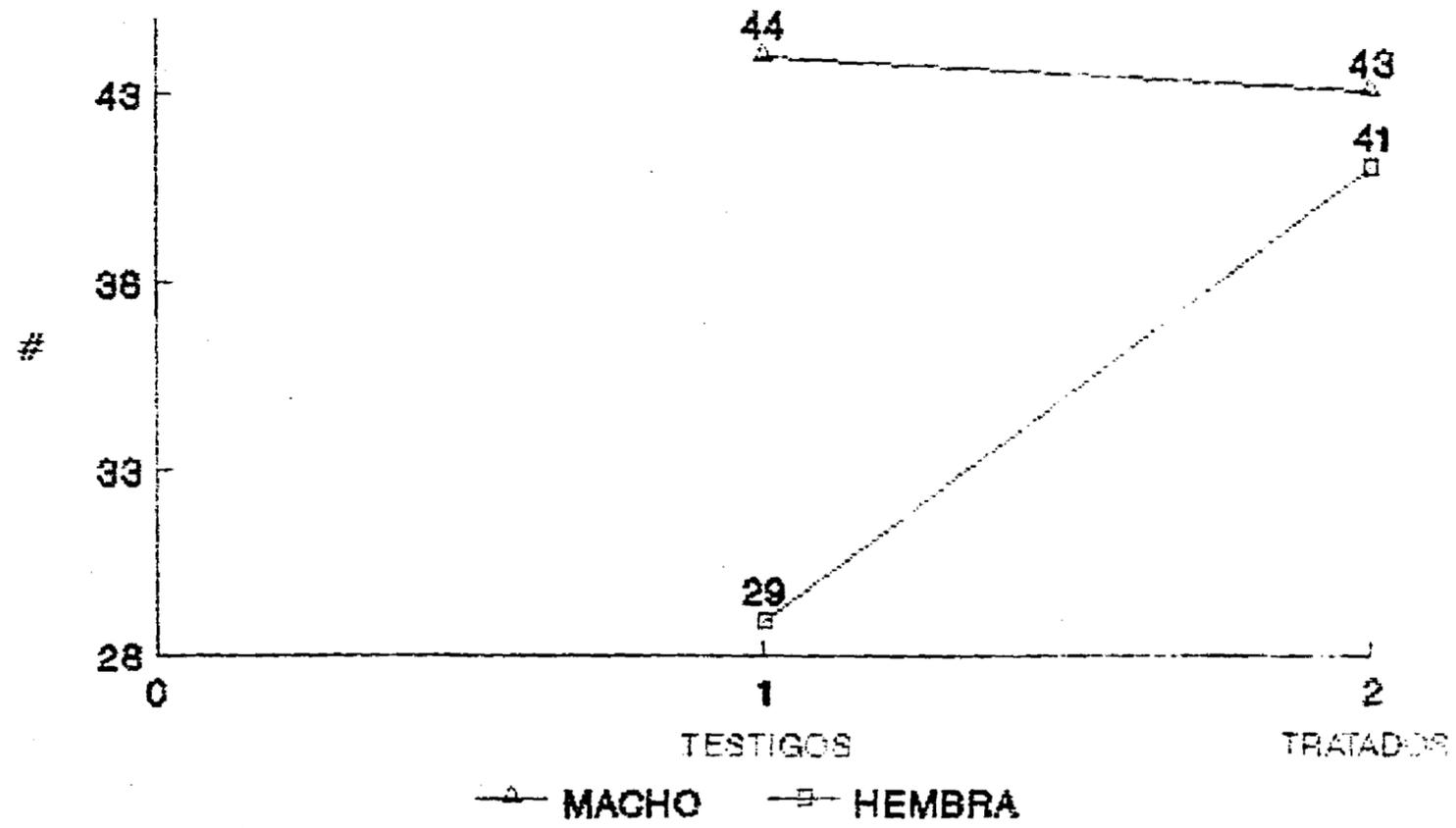
N. = Corresponde al tratamiento testigo donde no se aplicó el clenbuterol

T. = Corresponde al tratamiento de las aves donde se aplicó el clenbuterol

Los valores promedios correspondientes a muslos y piernas se localizan en el Cuadro 27. Como se puede apreciar, las aves testigo tuvieron estadísticamente ($P < 0.01$) mayor número de miofilamentos en el muslo que las aves que recibieron el clenbuterol; pero al evaluar el número de miofilamentos en pierna, los tratamientos en que se adicionó el producto resultaron con mayor número de miofilamentos estadísticamente que los testigos ($P < 0.01$). La misma diferencia estadística ($P < 0.01$) se puede apreciar en el efecto sobre sexo, donde las hembras

GRAFICA 6

NUMERO DE MIOFILAMENTOS POR MIOFIBRILLAS
EN PECHUGA DE POLLO DE ENGORDA CON
GLEONBUTEROL EN FINALIZACION



tuvieron un número mayor de miofilamentos que los machos, en las dos variables.

E. DISCUSION

RENDIMIENTO PORCENTUAL DE LAS PECHUGAS, MUSLOS Y PIERNAS

Por lo que respecta al peso rendimiento de las porciones corporales (pechugas, muslos y piernas) de las aves experimentales, se encontraron mejores rendimientos en las pechugas de las hembras tratadas. En cuanto al rendimiento de las piernas, resultó superior en 5.99% las de los machos, comparadas con las de las hembras. Este efecto es reconocido, ya que en el peso total de los machos es superior al de las hembras. En los muslos no existieron diferencias significativas entre sexos, pero existió efecto a clenbuterol.

El efecto del producto, en el caso de las pechugas, las aves suplementadas mejoraron a las testigo en un 8.51%; pero, al evaluar el peso de los muslos, se observó que el testigo superó en 2.5% al tratamiento donde se usó el producto como suplemento; finalmente, en el peso de las piernas, las aves tratadas (machos y hembras) superaron estadísticamente en un 4.97% a las testigo.

Estos resultados son compatibles con los de otros autores que han utilizado ABA en diferentes especies (Beerman *et al.*,⁸ Jones *et al.*,⁴⁷ Kim *et al.*,⁵⁶

Fiems et al.,⁴¹ Moser et al.,⁷⁴ Morgan et al.,^{72,73} y Thiel et al.,¹⁰⁸) encontrando una mayor síntesis de proteína en ciertos tejidos.

DIAMETRO DE LOS FASCICULOS

En cuanto al diámetro de los fascículos, en el estudio através de microscopía de luz. Se encontraron diferencias estadísticas en el efecto del clenbuterol sobre los pollos de engorda, en pechuga y pierna. Estos datos tuvieron un comportamiento muy parecido a los de las variables tanto del número de miofilamentos por miofibrilla, como los del diámetro de las células; lo que hace pensar que están correlacionadas, porque si aumenta o disminuye el número de miofilamentos por miofibrilla, o si las células son más anchas o más delgadas, el comportamiento lógico es que los fascículos sean más anchos o más delgados.

Este efecto no ocurrió estadísticamente de esta manera, en los muslos (Cuadro 21); aunque numéricamente sí se registró el mismo comportamiento. En cuanto al efecto de sexo, si existieron diferencias estadísticas; pero en la interacción clenbuterol por sexo, no.

DIAMETRO DE LAS CELULAS

Los valores promedios de diámetro de las células o fibras musculares en pechuga fueron congruentes

con los resultados obtenidos en los miofilamentos, ya que cuando existió un mayor diámetro de las células musculares, de las hembras tratadas aconteció un aumento en el número de miofilamentos.

Lo que no coincidió fueron los valores de los muslos, pues al evaluar el diámetro de las células musculares entre tratamientos, no se encontraron diferencias estadísticas; aunque en el número de miofilamentos en el muslo, entre tratamientos, sí. Sin embargo, los resultados en cuanto a esta variable no son tan contradictorios, porque numéricamente sí se encontraron diferencias a favor del testigo al evaluar los miofilamentos.

En el grosor de las células de las piernas, se encontraron también diferencias significativas entre los tratamientos a favor de las aves tratadas, coincidiendo igualmente con los resultados obtenidos en la evaluación de los miofilamentos en esta porción.

Este comportamiento de las células musculares, en pierna y pechuga, concuerda con lo que ha sido informado, usando clenbuterol u otro ABA en diferentes especies animales (Beermann et al.⁸, Coleman et al.¹⁸).

MIOFILAMENTOS POR MIOFIBRILLA

Varios investigadores han detectado hipertrofia muscular en animales que fueron tratados con clenbuterol.

Esta hipertrofia ha sido asociada con el aumento de las fibras musculares tipo I y II.⁸

Se han planteado diversas hipótesis para tratar de explicar tal fenómeno, entre otras: aumento de síntesis proteica⁴⁵ o disminución de su degradación;^{41,65,86} aumento en la retención de nitrógeno, lo que implica, igualmente, un aumento de proteína muscular;^{8,9,11,91,112} así como, el que este efecto sea propiciado por la disminución de la enzima proteolítica lisosomal.⁴²

Para el presente experimento, se partió del hecho de que el músculo está compuesto por fascículos, que a éstos lo constituyen las células o fibras musculares, mismas que están formadas por miofibrillas, las que a su vez están constituidas por miofilamentos. Este orden articulatorio se consideró para evaluar el efecto de hipertrofia muscular en los pollos de engorda.

El haber realizado esta medida por medio de microscopia electrónica se debe a que se consideró factible que los datos obtenidos hasta ahora pudieran ser erróneos; ya sea porque la medición para determinar la hipertrofia ha sido en forma menos comprobable dado que se basan en modificaciones en el color, peso de la masa muscular; o porque los que han investigado un poco más afirman haber medido el tamaño de las fibras musculares, que también no es algo por lo cual se pueda afirmar que es una hipertrofia muscular, pues se requiere un estudio

más completo. En cambio, si se profundiza más hasta comprobar si se da una mayor producción de miofilamentos, junto con análisis más externos: como medir el diámetro de las miofibrillas, el de las células, así como el de los fascículos y, aun más externo, el peso de la masa muscular, en valoraciones realizadas en diferentes partes del cuerpo, con el fin de analizar donde tiene más efecto el producto. Se concidera que con datos como éstos se tendrían más bases para definir si provoca hipertrofia muscular o no el uso de clenbuterol en el alimento para consumo de las aves. Esta idea motivó los estudios realizados en el Experimento IV, por lo que se desarrollaron cada uno de los pasos mencionados, a excepción de la medición de miofibrillas porque no se encontró la manera de medirlas.

Al verificar el comportamiento estadístico de las variables que se midieron por microscopía electrónica se puede observar que sí hubo diferencias estadísticamente significativas en cuanto al efecto del producto sobre la cantidad de miofilamentos por miofibrilla. En la pechuga se apreció (Cuadro 25) que las aves tratadas fueron superiores en un 11.9% a las no tratadas, resultando los machos con 20.5% más miofilamentos que las hembras; lo inexplicable es por qué las hembras no tratadas tuvieron tan poco número. Estos resultados tienen mucha interrelación con los obtenidos en cuanto al rendimiento porcentual de las pechugas.

De los datos obtenidos en microscopía electrónica, se puede afirmar que existe una alta correlación de los resultados en esta variable con los de los rendimientos totales de los muslos. Se asegura esto porque cuando se comparó el efecto entre tratamientos hubo diferencias estadísticas a favor del testigo, de la misma forma que cuando se evaluó el peso porcentual de los muslos. Y, aunque en esta variable, los resultados fueron mejores para las hembras; sigue habiendo una alta correlación con la otra variable, ya que el peso total de los muslos fue diferente numéricamente, también a favor de las hembras.

Por su parte, los resultados correspondientes al número de miofilamentos encontrados en las piernas (Cuadro 27), Mostraron que los pollos de engorda tratados tuvieron 14.3% más que los no tratados; resultados que coinciden con los de Young y McGee,¹¹⁵ este comportamiento también lo tuvieron en cuanto al rendimiento en peso, correlacionado de la misma forma que en las variables anteriores. Inexplicablemente, no existió esta correlación cuando se compararon los sexos, ya que en este caso los machos tuvieron 22.7% menos miofilamentos que las hembras y en el rendimiento de las piernas sucedió lo contrario; no existiendo explicación si esto se debió a algún error en la medición o al bajo número de observaciones.

F. CONCLUSIONES

Los resultados utilizando 1 ppm de clenbuterol como suplemento en el alimento de pollos de 21 a 48 días de edad, demuestran que favorece una mayor producción de proteína, lo que redundará en un gran aumento del rendimiento de la masa muscular. en las pechugas y piernas de los pollos; mientras que en el muslo reduce su efecto, posiblemente debido a que enfoca su esfuerzo a otras partes del cuerpo. El mejoramiento en rendimiento estuvo correlacionado en general con el mayor diámetro de los fascículos, fibras musculares y miofilamentos por miofibrilla.

Por lo tanto, se puede concluir que el clenbuterol a 1 ppm aumenta la hipertrofia muscular en las pechugas y piernas de las aves tratadas; lo que favorece tanto al consumidor como al productor, al haber mayor y mejor masa muscular.

ABSTRAT

For experiments were performed do study the β -adrenergic agonist called clenbuterol as an additive on the feedstuoff sorgun + soymeal in finalization aged broilers. Productive parameters, abdominal fat, carcass yield and muscle hipertrophy were evaluated in four experiments. In experiment I, sexed female and males of commercial broilers aged 28 a 48 days were fed at different clenbuterol levels (0.0, 0.5, 1.0, 1.5 and 2.0 ppm). Results indicated differences ($P < 0.05$) in corporal weight among sexes, being males heavier. With the addition of 1 ppm of clenbuterol. Abdominal fat was decreased ($P < 0.05$), both in females and in males. In a second experiment, broilers and in males. In a second experiment, broilers (males and females) 21 to 48 days old were fed with diets supplemented with 0 and 1 ppm clenbuterol. Data obtained regarding weight gain and feed conversion were higler in males ($P < 0.05$). The clenbuterol supplementation increased ($P < 0.05$) the proteic synthesis measured by radioactive fenilalanine, this is also reflected in the carcass protein content. In experment III the far acids content was evaluated in poultry sera previously fed with 0 and 1 ppm clenbuterol. the animals tested were 21 to 48 days old. Results indicate that chicken fed with the addition of clenbuterol present less abdominal fat as well as less fat acids content (more lipolisis and less lipogenesis). Experiment

ESTA TEXAS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

IV evaluated muscle hypertrophy as well as breast, muscle and drumstick yield in 21 to 48 day old broilers with 0 and 1 ppm clenbuterol. Data obtained showed a higher yield when using clenbuterol on breasts and drumsticks, due to a greater ($P < 0.05$) diameter in the fascicles, diameter in the muscular fibers and the miofilament per miofibrille number increment. The results of three experiments using clenbuterol at 1 ppm in broilers show that there is a carcass muscle improvement, a protein content increment and a reduction in the visceral fat deposition.

II. LITERATURA CITADA

1. AOAC: Official Methods of Analysis. 14th ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington, D.C., 1984.
2. Baker, P.K., Dalrymple, R.H., Ingle, D.L. and Ricks, C.A.: Use of a β -adrenergic agonist to alter muscle and fat deposition in lambs. J. Anim. Sci., 59: 1256-1261 (1984).
3. Becker, W.A., Spencer, J.V., Mirosh, L.W. and Verstrate, J.A.: Prediction of fat and fat free live weight in broiler chickens using backskin fat, abdominal fat and live body weight. Poult. Sci., 58: 835-842 (1979).
4. Beermann, D.H., Boyd, R.D., Fishell, V.K. and Ross, D.A.: A comparison of the repartitioning effects of cimaterol and somatotropin on skeletal muscle growth. Fed. Proc., 46: 1020 (1987) (Abstr.).
5. Beermann, D.H., Butler, W.R., Hogue, D.E., Dalrymple, R.H. and Ricks, C.A.: Plasma metabolic hormone, glucose and free fatty acid concentrations in lambs fed the repartitioning agent, cimaterol (CL 263,780). J. Anim. Sci., 61 (Suppl. 1): 255 (1985).
6. Beermann, D.H., Hogue, D.E., Dalrymple, R.H. and Ricks, C.A.: Effects of the repartitioning agent cimaterol (CL263,780) and fishmeal on skeletal muscle and repartitioning in lambs. J. Anim. Sci., 61 (Suppl. 1): 255 (1985).
7. Beermann, D.H., Hogue, D.E., Fishell, V.K., Dalrymple, R.H. and Ricks, C.A.: Effects of cimaterol and fishmeal on performance, carcass characteristics and skeletal muscle growth in lambs. J. Anim. Sci., 62: 370-380 (1986).
8. Beermann, D.H., Fishell, V.K., Hogue, D.E., Ricks, C.A. and Dalrymple, R.H.: Effects of the repartitioning agent, cimaterol (CL263,780) on skeletal muscle fiber type and fiber hypertrophy in lambs. J. Anim. Sci., 61(Suppl. 1): 254-255 (1985) (Abstr.).
9. Beermann, D.H., Reeds, D.J., Hovell, F.D. and Kyle, D.: Cimaterol elicits rapid physiological responses in growing lambs wholly nourished by intra-gastric infusion. J. Anim. Sci., 63(Suppl. 1): 240 (1986).
10. Bergen, W.G., Johnson, S.E., Skjaerlund, D.M., Babiker, A.S., Ames, N.K., Merkel, R.A. and Anderson,

- D.B.: Muscle protein metabolism in finishing pigs fed ractopamine. J. Anim. Sci., 67: 2255-2262 (1989).
11. Berne, R.S., Novakofski, J. and Bechtol, P.J.: Effects of the β -agonist clenbuterol on body and tissue weights in four strains of rats. J. Anim. Sci., 61(Suppl. 1): 256 (1985) (Abstr.).
 12. Buonomo, F.C., Lauterio, T.J. and Scanes, C.G.: Episodic growth hormone secretion in the domestic fowl (Gallus domesticus): Alpha adrenergic regulation. Comp. Biochem. Physiol., 78: 409-413 (1984).
 13. Buonomo, F.C., Zimmerman, N.G., Lauterio, T.J. and Scanes, C.G.: Catecholamine involvement in the control of growth hormone secretion in the domestic fowl. Gen. Comp. Endocr., 54: 360-371 (1984).
 14. Buyse, J., Decuyper, E., Huyghebaert, G. and Herremans, M.: The effect of clenbuterol supplementation on growth performance and on plasma hormone and metabolite levels of broilers. Poult. Sci., 70: 993-1002 (1991).
 15. Campbell, R.M. and Scanes, C.G.: Adrenergic control of lipogenesis and lipolysis in the chicken in vitro. Comp. Biochem. Physiol., 82: 137-142 (1985).
 16. Cherry, J.A., Swarthworth, W.J. and Siegel, P.B.: Adipose cellularity studies in commercial broiler chicks. Poult. Sci., 63: 97-108 (1984).
 17. Coleman, M.E., Ekeren, P.A. and Smith S.B.: Adipose tissue metabolism in sheep fed the repartitioning agent clenbuterol. J. Anim. Sci., 61(Suppl. 1): 264 (1985).
 18. Coleman, M.E., Ekeren, P.A., Lunt, D.K. and Smith S.B.: Muscle and adipose tissue development in heifers fed the beta-agonist clenbuterol. J. Anim. Sci., 63(Suppl. 1): 3 (1986).
 19. Coleman, M.E., Ekeren, P.A., Lunt, D.K. and Smith, S.B.: Lipid synthesis and adipocyte growth in adipose tissue from sheep chronically fed a beta-adrenergic agent. J. Anim. Sci., 66: 372-378 (1988).
 20. Cromwell, G.L.: Repartitioning agents what's ahead: in Biotechnology in the Feed Industry. Edited by: Lyons, T.P., Proceedings of Alltech's Fourth Annual Symposium. Kentucky, 1988.

21. Cromwell, G.L., Kemp, J.D., Stahly, T.S., May, J.R. and Monegue, H.J.: Efficacy of cimaterol as a repartitioning agent for swine. J. Anim. Sci., 65 (Suppl. 1): 300 (1987).
22. Cromwell, G.L., Kemp, J.D., Stahly, T.S. and Dalrymple, R.H.: Effects of dietary level and withdrawal time on the efficacy of cimaterol as a growth repartitioning agent in finishing swine. J. Anim. Sci., 66: 2193-2199 (1988).
23. Cuca, G.M., Avila, G.E. y Pr6, M.A.: La Alimentaci6n de las Aves. . Colegio de Postgraduados, Chapingo, Edo. de M6xico, 1990.
24. Curtis, S.E.: Management and environmental consideration for successful use of repartitioning agents. Proc. Univ. of Illinois Pork Ind. Conf.: 64. 1987 cited by Cromwell. 19
25. Dalrymple, R.H., Baker, P.K., Gingher, P.E., Ingle, D.L., Pensack, J.M. and Ricks, C.A.: A repartitioning agent to improve performance and carcass composition of broilers. Poult. Sci., 63: 2376-2383 (1984).
26. Dalrymple, R.H., Baker, P.K., Doscher, M.E., Ingle, D.L. and Ricks, C.A.: Effect of the repartitioning agent cimaterol on growth and carcass characteristics of lambs. J. Anim. Sci., 61(Suppl. 1): 256 (1985).
27. Dalrymple, R.H. Gingher, P.E., Ingle, D.L., Maddock, H.M., Pensack, J.M., Ricks, C.A., Goodwin, T.L. and Waldroup, P.W.: Use of repartitioning agent NC 263,780 to improve performance and carcass characteristics in broilers. Poult. Sci., 63(Suppl. 1): 85 (1984).
28. Dalrymple, R.H., Ricks, C.A., Baker, P.K., Pensack, J.M., Gingher, P.E. and Ingle, D.L.: Use of the β -agonist clenbuterol to alter carcass composition in poultry. Fed. Proc., 42: (1983) (Abstr.).
29. Dean, W.F.: Improved carcass composition in ducks fed the Beta-adrenergic agonist cimaterol. Poult. Sci., 67(Suppl. 1): 73 (1988) (Abstr.).
30. Deaton, J.W., Mcnaughton, J.L., Reece, F.N. and Lott, B.D.: Abdominal fat of broilers as influenced by dietary level of animal fat. Poult. Sci., 60: 1250-1253 (1981).
31. Department of Health and Social Security.: Committee on Medical Aspects of Food Policy. Diet and cardiovascular disease. Her Majesty's Stationery

Office, London. Report on Health and Social Subjects, No 28 1984 cited by Williams et al.111

32. Donaldson, W.E.: Lipogenesis and body fat in chicks: Effects of Calorie-Protein ratio and dietary fat. Poult. Sci., 64: 1199-1204 (1985).
33. Duquette, P.F. and Muir, L.A.: Effect of the beta-adrenergic agonists isoproterenol, Clenbuterol, L-640,033 and BRL35135 on lipolysis and lipogenesis in rat adipose tissue in vitro. J. Anim. Sci., 61(Suppl 1.): 265 (1985).
34. Eadara, J., Dalrymple, R.H., Delay, R.L., Ricks, C.A. and Romsos, D.R.: Cimaterol, a novel beta-agonist, selectively stimulates white adipose tissue lipolysis and skeletal muscle lipoprotein lipase activity in rats. Fed. Proc., 46: 1020 (1987) (Abstr.).
35. Edwards, J.H.: Carcass composition studies. 3. Influences of age, sex and caloric-protein content of the diet on carcass composition of Japanese quail. Poult. Sci., 60: 2506-2512 (1981).
36. Eisen, E.J., Croom, W.J. and Helton, S.W.: Differential response to the β -adrenergic agonist cimaterol in mice selected for rapid gain and unselected controls. J. Anim. Sci., 66: 361-371 (1988).
37. Emery, P.W., Rothwell, N.J., Stock, M.J. and Winter, P.D.: Chronic effects of beta 2-adrenergic agonists on body composition and protein synthesis in the rat. Biosci. Rep., 4: 83-91 (1984).
38. Es van, A.J.H.: The energetics of fat deposition during growth. Nutr. Metab., 21: 88-104 (1977).
39. Fain, J.N. and Garcia-Sainz, J.A.: Adrenergic regulation of adipocyte metabolism. J. Lipid Res., 24: 945-966 (1983).
40. Fiems, L.O.: Effect of beta-adrenergic agonists in animal production and their mode of action. Ann. Zootech., 36: 271-290 (1987).
41. Fiems, L.O., Decuypere, E. and Boucque, C.V.: A note on the effect of feeding cimaterol on some endocrinological parameters and growth in different types of finishing beef bulls. Anim. Prod., 48: 601-605 (1982).
42. Forsberg, N.E., Nassar, A.R., Dalrymple, R.H. and Ricks, C.A.: Cimaterol reduces cathepsin B activity

- in sheep skeletal muscle. Fed. Proc., 46: 1176 (1987) (Abstr.).
43. Galbraith, H. and Topps, J.H.: Effect of hormones on the growth and body composition. Nutr. Abstr. Rev., 51: 521-540 (1981).
44. García, E.: Modificaciones al Sistema de Clasificación de Koppen. Instituto de Geografía, Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F., 1973.
45. Garlick, P.J., McNurlan, M.A. and Preedy, V.R.: A rapid and convenient technique for measuring the rate of protein synthesis in tissues by injection of [3H] phenylalanine. Biochem. J., 192: 719-723 (1980).
46. Gwartney, B.L., Calkins, C.R. and Jones, S.J.: Response time of broilers to cimaterol: Meat tenderness and carcass characteristics. Poult. Sci., 68(Suppl. 1): 57 (1990) (Abstr.).
47. Jones, R.W., Easter, R.A., McKeith, F.K., Dalrymple, R.H., Maddock, H.M. and Bechtel, P.J.: Effect of the beta adrenergic agonist cimaterol on the growth and carcass characteristics of finishing swine. J. Anim. Sci., 61: 905-913 (1985).
48. Hanrahan, J.P., Quirke, J.F., Bomann, W., Allen, P., McEwan, J., Fitzsimons, J., Koizian, J. and Roche, J.F.: β -agonists and their effect on growth and carcass quality. In: Recent Advances in Animal Nutrition. Edited by: Haresign W., Colf K.J.A., 125-138 Butterworths, London, 1986.
49. Harris, R.B.S., Neal, M.J. and Martin, R.J.: The effects of adrenergic agonists and age on lipogenesis in avian hepatocytes. Comp. Biochem. Physiol., 91: 579-583 (1988).
50. Harvey, S. and Scanes, C.G.: Purification and radioimmunoassay of chicken growth hormone. J. Endocrinol., 73: 321-330 (1977).
51. Harvey, S. and Scanes, C.G.: Effect of adrenaline and adrenergic active drugs on growth hormone secretion in immature cockerels. Experientia, 34: 1096-1097 (1978).
52. Hausman, D.B., Martin, R.J., Veenhuizen, E.L. and Anderson, D.B.: Effect of ractopamine on insulin sensitivity and response of isolated rat adipocytes. J. Anim. Sci., 67: 1455-1464 (1989).

53. Hayat, M.A.: Principles and techniques of electron microscopy. volumen 1. Biological application (Van Nostrand Reinhold, New York) 1970.
54. Hill, M.A. and Dalrymple, R.H.: Evaluation of feet and skeletons of limbs from pigs treated with a repartitioning agent, cimaterol. Can. J. Vet., 51: 217-223 (1987).
55. Hu, C.Y., Suryawan, A., Forsherg, N.E., Dalrymple, R.H. and Ricks, C.A.: Effect of cimaterol on sheep adipose tissue lipogenesis. Fed. Proc., 46: 1177 (1987) (Abstr).
56. Kim, Y.S., Lee, Y.B. and Dalrymple, R.H.: Effect of the repartitioning agent cimaterol on growth, carcass and skeletal muscle characteristics in lambs. J. Anim. Sci., 65: 1392-1399 (1987).
57. Kretchmar, D.H., Hathaway, M.R., Epley, R.J. and Dayton, W.R.: Effect of dietary beta agonist on calcium-activated proteinase and cathepsin activities in ovine muscle tissue. J. Anim. Sci., 66(Suppl. 1): 278-279 (1988) (Abstr.).
58. Kvam, D.C., Schmidt, J.G., Riggilo, D.A. and Gallo, D.G.: Colorimetric microdetermination of plasma free fatty acids. J. Pharmac. Sci., 53: 988-990 (1964).
59. Lee, Y.B., Jung, H., Kim, Y.S. and Dalrymple, R.H.: Effect of cimaterol (CL 263, 780) on meat quality in lambs. J. Anim. Sci., 66(Suppl. 1): 279 (1988) (Abstr.).
60. Lucas, E.W., Wallace, H.D., Palmer, A.Z. and Combs, G.E.: Influence of hormone supplementation, dietary protein level and sex on the performance and carcass quality of swine. J. Anim. Sci., 33: 780-786 (1971).
61. Luft, J.H.: Improvements in epoxy resin embedding methods, J. Bilphys. Biochem. Cytol. 9: 409 (1961).
62. McDowell, G.H.: Hormonal control of glucose homoeostasis in ruminants. Proc. Nutr. Soc., 42: 149-167 (1983).
63. McElligott, M.A. and Chaung, L.Y.: Effects of serum from rats treated with a β -adrenergic agonist on protein turnover in L8 muscle cells. Fed. Proc., 46: 1020 (1987) (Abstr.).
64. McNurlan, M.A. and Garlick, P.J.: Contribution of rat liver and gastrointestinal tract to whole-body

- protein synthesis in the rat. Biochem. J., 186: 381-383 (1980).
65. Merkley, J.W. and Cartwright, A.L.: Adipose tissue deposition and cellularity in cimaterol-treated female broilers. Poult. Sci., 68: 762-770 (1989).
 66. Merkley, J.W. and Garwood, V.A.: Growth response to chronic beta agonist feeding and mature carcass characteristics of quail (Coturnix japonica) selected for high and low body densities. Poult. Sci., 68: 1540-1546 (1989).
 67. Mersmann, H.J.: Effect of β -adrenergic agonists on porcine adipose tissue metabolism. Fed. Proc., 46: 1021 (1987) (Abstr.).
 68. Mersmann, H.J., Brown, L.J., Underwood, M.C. and Stanton, H.C.: Catecholamine-induced lipolysis in swine. Comp. Biochem. Physiol., 47: 263-270 (1974).
 69. Mersmann, H.J., Hu, C.Y., Pond, W.G., Rule, D.C., Novakofski, J.E. and Smith, S.B.: Growth and adipose metabolism in young pigs fed cimaterol with adequate or low dietary protein. J. Anim. Sci., 64: 1384-1394 (1987).
 70. Miller, M.F., Garcia, D.K., Coleman, M.E., Ekeren, P.A. and Smith, S.B.: Nonesterified and glyceride-fatty acid synthesis in bovine adipose tissue from heifers fed clenbuterol. J. Anim. Sci., 63(Suppl. 1): 236-237 (1986).
 71. Mills, S.E. and Orcutt, A.L.: Effect of long feeding of clenbuterol on mouse adipocyte lipolysis. Fed. Proc., 46: 1177 (1987) (Abstr.).
 72. Morgan, J.B., Calkins, C.R. and Jones, S.J.: Cimaterol-fed broiler chickens: Changes in tenderness, cathepsin B activity and composition. J. Anim. Sci., 66(Suppl. 1): 278 (1988) (Abstr.).
 73. Morgan, J.B., Jones, S.J. and Calkins, C.R.: Cimaterol-fed broiler chickens: Influence on muscle protein turnover. J. Anim. Sci., 66(Suppl. 1): 278 (1988) (Abstr.).
 74. Moser, R.L., Dalrymple, R.H., Cornelius, S.G., Pettigrew, J.E. and Allen, C.E.: Effect of cimaterol as a repartitioning agent in the diet for finishing pig. J. Anim. Sci., 62: 21-26 (1986).
 75. Muir, L.A., Wien, S., Duquette, P.F. and Olson, G.: Effect of the beta-adrenergic agonist L-640,033 on

- lipid metabolism, growth and carcass characteristics of female broiler chickens. J. Anim. Sci., 61(Suppl. 1): 263-264 (1985).
76. Muramatsu, T., Kakita, M., Aoyagi, Y. and Okumura, J.: Research note: β -adrenergic agonist effects on liver and breast muscle protein synthesis in female chicks. Poult. Sci., 70: 1630-1632 (1991).
77. Muramatsu, T. and Okumura, J.: Whole-body protein turnover in chickens at early stages of growth. J. Nutr., 115: 483-490 1985.
78. Muramatsu, T., Salter, D.N. and Coates, M.E.: Protein turnover of breast muscle in germ-free and conventional chicks. Br. J. Nutr., 54: 131-145 (1985).
79. National Advisory Committee on Nutrition Education: Proposals for nutritional for health education in Britain. The Health Education Council, London, 1983 cited by: Williams et al. 108
80. Neal, M.J., Harris, R.B.S. and Martin, R.J.: In vitro adrenergic regulation of avian hepatic lipogenesis. Fed. Proc., 46: 1476 (1987) (Abstr.).
81. NRC: Nutrient Requeriments of Domestic Animals. Nutrient Requeriments of Poultry. 8th ed, National Academy Science, Washington, D.C., 1984.
82. Ornelas, J.J.G.: Evaluación del Isoproterenol sobre el comportamiento productivo y calidad de la canl de cerdos en finalización. Tesis de maestria Fac. de Med. Vet. y Zoot., Universidad Nacional Autónoma de México., México, D.F., 1990.
83. Orcutt, A.L., Cline, T.R. and Mills, S.E.: Influence of beta-adrenergic agonists on sensitivity of mouse adipocytes to insulin. J. Anim. Sci., 63(Suppl. 1): 231 (1986).
84. Peterla, T.A., Ricks, C.A. and Scanes, C.G.: Comparison of β -agonist stimulation of In Vitro lipolysis in rat and sheep. Fed. Proc., 46: 1021 (1987) (Abstr.).
85. Pfaff, F.Jr.E. and Austic, R.E.: Influence of diet on development of the abdominal fat pad in the pullet. J. Nutr., 106: 443-450 (1976).

86. Reeds, P.J., Hay, S.M., Dorwood, P.M. and Palmer, R.M.: Stimulation of muscle growth by clenbuterol: Lack of effect on muscle protein biosynthesis. Brit. J. Nutr., 56: 249-258 (1986).
87. Rickes, E.L., Muir, L.A. and Duquette, P.F.: Effect of the beta-adrenergic agonist L-640,033 on growth and carcass composition of growing male rats. J. Anim. Sci., 61(Suppl. 1): 264 (1985) (Abstr.).
88. Rickes, E.L., Olson, G., Duquette, P.E. and Convey, E.M.: Effect of the beta-adrenergic agonist L-644,969 on growth and carcass composition of broiler chickens. Poult. Sci., 66(Suppl. 1): 166 (1987) (Abstr.).
89. Ricks, C.A., Baker, P.K., Dalrymple, R.H., Doscher, M.E., Ingle, D.L. and Pandavich, J.: Use of clenbuterol to alter muscle and fat accretion in swine. Fed. Proc., 43: 857 (1984) (Abstr.).
90. Ricks, C.A., Dalrymple, R.H., Baker, P.K. and Ingle, D.L.: Use of a β -agonist to alter fat and muscle deposition in steers. Fed. Proc., 42: 816 (1983) (Abstr.).
91. Ricks, C.A., Dalrymple, R.H., Baker, P.K. and Ingle, D.L.: Use of a beta-agonist to alter fat and muscle deposition in streers. J. Anim. Sci., 59: 1247-1255 (1984).
92. Robbins, K.R.: Effects of sex, breed, dietary energy level, energy source, and calorie: Protein ratio on performance and energy utilization by broiler chicks. Poult. Sci., 60: 2306-2315 (1981).
93. Roeder, R.A., Hackmann, N.L., Arnzen, J.M. and Hunt, C.W.: Effect of β -adrenergic agonists on protein turnover in muscle cell cultures. Fed. Proc. 46: 1177 (1987) (Abstr.).
94. Rosebrough, R.W., Steele, N.C., McMurtry, J.P. and Plaunik, I.: Effect of early feed restriction in broilers. H. lipid metabolism. Growth, 50: 217-227 (1986).
95. Rosebrough, R.W. and Steele, N.C.: Dietary crude protein levels and the effect of isoproterenol on In Vitro lipogenesis in the chicken. 1684-1691 (1990).
96. Rothwell, N.J., Stock, M.J. and Winter, P.D.: Effects of selective beta-adrenoreceptor agonists on energy

- balance and body composition in the rat. Proc. Nutr. Soc., 43: 71 (1983).
97. Sabatin, D.D., Bensch, K. and Barnett, R.J.: Cytochemistry and electron microscopy the preservation of cellular ultrastructure and enzymatic activity by aldehyde fixation. J. Cell Biology, 17: 19-58 (1963).
98. SAS/STAT Guide for Personal Computers, Version 6. SAS Statistic Analysis System Inst., Inc., Cary, North Carolina. 1983.
99. Scanes, C.G., Griminger, P. and Bunomo, F.C.: Effects of dietary restriction on circulating concentrations of growth hormone in growing domestic fowl (Gallus domesticus). Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 168: 334-337 (1981).
100. Scholtyssek, S.: The effect of cimaterol on the performance of broilers. cited by Hanrahan.49
101. Shimizu, S., Tani, Y., Yamada, H., Tabata, M. and Murachi, T.: Enzymatic determination of serum-free fatty acids: A colorimetric method. Anal. Biochem. 107: 193-198 (1980).
102. Siddle, K. and Hales, C.N.: Hormonal control of adipose tissue lipolysis. Proc. Nutr. Soc., 34: 233-239 (1975).
103. Smith, S.B., Welsh, T.H., Miller, M.F., Garcia, D.K., Ekeren, P.A. and Wagnet, K.A.: Adipose tissue and anterior pituitary growth and function in clenbuterol-fed heifers. Fed. Proc., 46: 1177 (1987) (Abstr.).
104. Stanton, H.C. and Mueller, R.L.: Metabolic responses induced in neonatal swine by norepinephrine, epinephrine, and isoproterenol. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 143: 492-494 (1973).
105. Stiles, G.L., Caron, M.G. and Lefkowitz, R.J.: Beta-adrenergic receptors: Biochemical mechanisms of physiological regulation. Phys. Rev., 64: 661-743 (1984).
106. Stosberg, A.D., Vauquelin, G., Durieu-Trautmann, O., Delavier-Klutchko, C., Bottari, S. and Andre, C.: Towards the chemical and functional characterization of the B-adrenergic receptor trends. Biochem. Sci., 5: 11-14 (1980).

107. Thornton, R.F., Tume, R.K., Payne, G., Larsen, T.W., Johnson, G.W. and Hohenhaus, M.A.: The influence of the beta 2-adrenergic agonist clenbuterol on lipid metabolism and carcass composition of sheep. Proc. N. Z. Soc. Anim. Prod., 45: 97-101 (1985).
108. Thiel, L.F., Beermann, D.H., Fishell, V.K. and Crooker, B.A.: Effects of cimaterol on growth of hypophysectomized rats. Fed. Proc., 46: 1176 (1987) (Abstr.).
109. Vauquelin, G., Geynet, P., Hanoune, J. and Strosberg, A.D.: Isolation of adenylate cyclase-free, B-adrenergic receptor from turkey erythrocyte membranes by affinity chromatography. Proc. Natl. Acad. Sci., 74: 3710-3714 (1977).
110. Visek, W.J.: The mode of growth promotion by antibiotics. J. Anim. Sci., 46: 1447-1468 (1978).
111. Washburn, K.W., Guill, R.A. and Edwards, H.M.: Influences of genetic differences in feed efficiency on carcass composition of young chickens. J. Nutr., 105: 1311-1317 (1975).
112. Williams, P.E.V., Pagliani, L., Innes, G.M., Pennie, K. and Garthwaite, P.: Effects of a beta-agonist (clenbuterol) on growth, carcass composition, protein and energy metabolism of veal calves. Brit. J. Nutr., 57: 417-428 (1987).
113. Wrenn, S.M. and Homcy, C.J.: Photoaffinity label for the β -adrenergic receptor: Synthesis and effects on isoproterenol-stimulated adenylate cyclase. Proc. Natl. Acad. Sci., 77: 4449-4453 (1980).
114. Young, R.B., Moriarity, D.M., McGee, C.E., Farrar, W.R. and Richter, H.E.: Protein metabolism in chicken muscle cell cultures treated with cimaterol. J. Anim. Sci., 68: 1158-1169 (1990).
115. Young, R.B., McGee, C.E., Moriarity, D.M., Richter, H.E., Campbell, M.R., Maupin, J.A. and Hudson, J.R.: Protein metabolism in chicken muscle cell cultures treated with cimaterol. Fed. Proc., 46: 1120 (1987) (Abstr.).

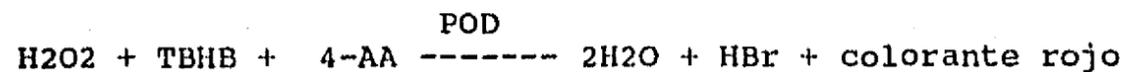
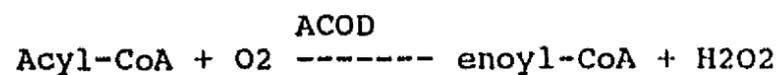
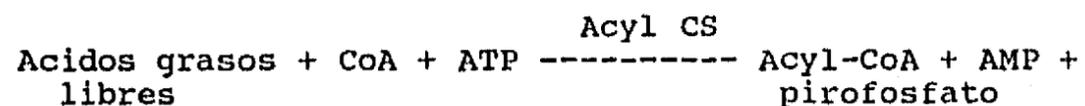
III. APENDICE

Acidos Grasos Libres

Prueba enzimática colorimétrica para la determinación de los ácidos grasos libres en suero.

Principio del método

En presencia de los ácidos grasos libres la enzima Acyl-CoA sintetasa es convertida por la adenosin-5'-trifosfato (ATP) y coenzima A (CoA) en acyl coenzima A (Acyl CoA), adenosin -5'-monofosfato (AMP) y pirofosfato como productos. La Acyl CoA formada reacciona con el oxígeno (O₂) en presencia de Acyl CoA oxidasa (ACOD) para formar 2.3- enoyl-coenzima A (enoyl CoA) y peróxido de hidrógeno; el peróxido de hidrógeno (H₂O₂) convierte al 2,4,6- tribromo-3- hidroxibenzoico (TBHB) y la 4 aminoantipirina (4-AA), en presencia de peroxidasa (POD), a 2H₂O, HBr y un color rojo, el cual debe ser medido en un espectrofotómetro a un intervalo visible de 546 nm.



Combinación del teste

- 1- El frasco con 65 ml de sustancia buffer fosfato de potasio, pH de 7.8, ácido tribromohydroxybenzoico, cloridrato de magnesio y estabilizadores.
- 2- El frasco con 30 tabletas, cada tableta contiene: ATP, coenzima A, acyl-CoA-syntetasa, peroxidasa, ascorbato oxidasa, 4 aminoantipirina y estabilizadores.
- 3- El frasco con 3.5 ml solución aqueous N-ethyl-maleinimide y estabilizadores.
- 4- Frasco con Acyl-CoA oxidasa liofilisada.

Preparación de la solución

- I. Use el contenido del frasco 1 sin diluir
- II. Disuelva una tableta del frasco 2 con 2 ml de la solución del frasco 1 en un beaker o en un tubo de centrifuga para cada muestra (blanco o muestra) dependiendo de el número de determinaciones. Use pinzas para extraer las tabletas del frasco 2. Esto resulta la muestra A.
- III. Use el contenido del frasco 3 sin diluir.
- VI. Disuelva el contenido del frasco 4 con 1.1 ml de la solución III resultando la reacción mezclada B.

Estabilidad de la solución

Solución 1 es estable por un año a +4°C.

Reacción de la mezcla A es estable por 32 hrs a +4°C por 8 hrs.

Reacción de la mezcla B es estable por 4 hrs a $+4^{\circ}\text{C}$ por 8 hrs.

Preparación de la muestra

Colecte la sangre y colquela en un tubo de ensayo conteniendo el suero. Prepare el suero de la forma usual.

Los ácidos grasos libres son estables en suero o plasma durante 7 días a 4°C o 2 días de 20 a 25°C .

Procedimiento.

Longitud de honda: 546 nm (Hg).

Temperatura: 37°C .

Volumen de ensayo: 3.15 ml.

Pipeteado	Blanco	Muestra
mezcla A	2.00 ml	2.00 ml
muestra	-----	0.05 ml
agua bidestilada	1.05 ml	1.00 ml
Se colocaron los tubos de ensayo con estos compuestos en baño maría a 37°C durante 10 minutos, para luego leerla en espectrofotómetro, el resultado fue la absorvencia A1. Se continuó con:		
mezcla B	0.10 ml	0.10 ml
Nuevamente se colocaron los tubos de ensayo en baño maría de 10 a 15 minutos; al finalizar, se leyó de nuevo en el espectrofotómetro, y el resultado fue la absorvencia A2.		

Se calcularon las diferentes absorvencias (A2 - A1) para blanco y muestra, restando la diferencia de

absorvencia del blanco (ΔA_b) de la diferencia de absorvencia de la muestra (ΔA_s): esto resultó en ΔA .

$$\Delta A = \Delta A_s - \Delta A_b$$

La concentración se calculó de acuerdo con la siguiente fórmula general:

$$C = \frac{V \times F}{x \times d \times v} \times \Delta A \text{ [mmol/l solución muestra],}$$

donde:

V = Volumen final (ml).

v = Volumen de muestra (ml).

d = Paso de luz.

= Coeficiente de absorción del colorante a 546 nm
19.3 (l x mmol⁻¹ x cm⁻¹).

F = Factor de dilución = 1.026.

El factor de dilución fue calculado de la gravedad específica del suero de pollos de engorda a la séptima semana (p = 1.03 g/ml) y de la fracción de líquido del suero (92%) = 0.92).

$$F = 1.03 \times 0.92 = 0.948$$

$$C = \frac{3.15 \times 0.948}{19.3 \times 1 \times 0.05} \times \Delta A = 3.095$$

Referencias

- 1 Shimizu, S et al. (1980) Anal. Biochem. 107, 193-198.
- 2 Harris, R.J. (1974) J. Pediatr. 84, 578-584.

-
- 1 If desired, commercially available disposable cuvettes may be used instead of glass cuvettes.
 - 2 registered trademark of the American Can Company, Greenwich, Ct, USA.
 - 3 The absorbance coefficient of the dyestuff depends on the type of buffer, the pH of the assay system and the purity of TBHB. Under the assay conditions stated above, it varies between 19.1 and 19.5 [l x mmol⁻¹ x cm].

BOEHRINGER MANNHEIM BIOCHEMICAL