0 1672



UNIVERSIDAD NACIONAL

DE MEXICO

AUTONOMA

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

EFECTO DE LA BETAINA SOBRE LA PIGMENTACION DEL POLLO DE ENGORDA CON DOS DIFERENTES FUENTES DE XANTOFILAS.

 \mathbf{E} QUE PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRO EN CIENCIAS PRESEN T A MVZ. ANGEL MANUEL ORNELAS ROA

TUTOR PRINCIPAL: MSc. ERNESTO AVILA GONZALEZ COMITE TUTORAL: MC. ANTONIO DIAZ CRUZ PhD. FERNANDO CISNEROS GONZALEZ







UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO.

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN.

EFECTO DE LA BETAINA SOBRE LA PIGMENTACIÓN DEL POLLO DE ENGORDA CON DOS DIFERENTES FUENTES DE XANTOFILAS.

TESIS PARA OBTENER EL GRADO DE

MAESTRO EN CIENCIAS

PRESENTA:

MVZ. ANGEL MANUEL ORNELAS ROA.

TUTOR PRINCIPAL: MSc. ERNESTO ÁVILA GONZÁLEZ.

COMITÉ TUTORAL: MC. ANTONIO DIAZ CRUZ

PhD. FERNANDO CISNEROS GONZALEZ

MÉXICO, D.F.

SEPTIEMBRE 2001

DECLARACIÓN

Doy mi consentimiento a la división de Estudios de Posgrado e Investigación de la Facultad de Medicina, Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México, para que esta tesis sea disponible para cualquier tipo de reproducción e intercambio bibliotecario.

Atentamente

MVZ. ANGEL MANUEL ORNELAS ROA

Dedicatorias:

A mi esposa Consuelo y a mis hijos Jacqueline, Carlos y Mónica; por ser

las personas mas importantes en mi vida, porque gracias a ellos he llegado a

lograr las metas mas importantes que e fijado en mi existencia.

A mis padres:

Por darme la vida, su amor y compresión en los momentos buenos y difíciles

que se me han presentado.

A mis hermanos:

En forma muy especial a mis hermanas: Margarita y Rosa María, por su

grandeza como hermanas y como persona, gracias por su gran apoyo de

siempre.

A mis hermanos: Por su amistad y consejos.

Agradecimientos

A la Universidad Nacional Autónoma de México.

A la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnica.

Al centro de Enseñanza, Investigación. Y Extensión en Producción.

A la Dirección Adjunta de Asuntos Internacionales y becas, del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología. (CONACYT); por el apoyo de la beca otorgada para la realización de mis estudios de maestría.

A mi tutor, Dr. Ernesto Ávila González, por su amistad, paciencia y confianza que siempre me ha tenido y siempre he recibido cosas buenas.

Al Dr. Ernesto Soto por su amistad y apoyo incondicional.

A los doctores Roberto Santiago y Rene Morales por la disponibilidad que siempre mostraron conmigo y por su gran amistad.

A los Laboratorios AVIMEX, por todas la facilidades que me dieron para la realización del experimento.

A la empresa Pigmentos Vegetales del Centro por la donación del pigmento y todos los estudios de laboratorio.

A Laboratorio Bios - Reka por la donación de la Betaina.

Al PHD. Fernando Cisneros y al MVZMC Antonio Díaz Cruz quienes fungieron como parte de mi comité tutoral, por compartir sus conocimientos y tiempo para la culminación de este trabajo y por la disponibilidad que siempre mostraron conmigo.

CONTENIDO

CONTENIDO	i
LISTA DE CUADROS	11
LISTA DE FIGURAS	IV
RESUMEN	V
SUMMARY	VIII
INTRODUCCIÓN	1
BETAINA	3
PIGMENTO	3
CLASIFICACION	4
CAROTENOIDES	5
EFECTOS FARMACOLOGICOS	6
COCCIDIOSIS	15
BETAINA	18
JUSTIFICACION	24
OBJETIVOS	25
HIPOTESIS	26
MATERIAL Y MÉTODOS	27
RESULTADOS	33
DISCUSION	36
PIGMENTACION DE LA PIEL Y NIVELES DE LUTEÍNA SÉRICA	37
GRASA DE LA CANAL	40
COCCIDIOSIS	42
CONCLUSIONES	46

LISTA DE CUADROS	PÁGINA
Cuadro 1. Composición de las dietas experimentales	60
Basales empleadas en los dos experimentos en la fase de	
iniciación y finalización.	
Cuadro 2. Resultados de parámetros productivos en 49 días	61
de edad en pollo de engorda (Experimento 1).	
Cuadro 3. Coloración de la piel de la pechuga a los 49 días de	62
edad en pollos procesados (Experimento 1).	
Cuadro 4. Porcentaje de mortalidad a los 49 días de edad	63
(Experimento 1).	
Cuadro 5. Datos promedio en 49 días de edad en pollo de	64
Engorda (Experimento 2).	
Cuadro 6. Coloración de la piel de la pechuga a los 49 días	65

edad en pollos procesados (Experimento 2).

Cuadro 7. Mortalidad a los 49 días de edad (Experimento 2).	66
Cuadro 8. Niveles de luteína sérica a los 49 días de edad	
(Experimento 2)	67
Cuadro 9. Contenido de grasa abdominal a 49 días de edad en	
canales de pollo de engorda (Experimento 2)	68
Cuadro 10. Número de ooquistes de Eimeria acervulina	69
por gramo de muestra de 28 a 49 días de	
edad.	

RESUMEN

ANGEL MANUEL ORNELAS ROA: Efecto de la betaina sobre la pigmentación del pollo de engorda con dos diferentes fuentes de xantofilas.

Con objeto de determinar si la adición de betaina en la dieta tiene una influencia en la pigmentación de la piel del pollo de engorda, se realizaron dos experimentos. En el primero se utilizaron 360 pollos de engorda Arbor Acres x Arbor Acres mixtos de un día de edad, los cuales fueron distribuidos al azar en 4 tratamientos con tres réplicas de 30 aves cada una. Se empleó un diseño completamente al azar, con arreglo factorial 2x2; un factor fue con y sin la adición de 750 ppm de betaina de 1 a 49 días de edad y el otro factor la suplementación de los 21 a los 49 días de edad de xantofilas saponificadas de flor de cempasúchil bajas y altas en zeaxantina (60 y 70 ppm respectivamente), a dietas sorgo + soya. Los resultados a los 49 días de edad para peso promedio (2446, 2421, 2454 y 2412 g), ganancia de peso diaria (49.9, 49.4, 50 ó 49.2 g), consumo de alimento (5173, 5143, 5218 y 5098 g) y conversión alimenticia (2.080, 2.081, 2.126 y 2.035), no mostraron diferencia significativa (P < 0.05) entre tratamientos. La evaluación de la pigmentación en la piel de la pechuga con un colorímetro de reflectancia R-300 en el sistema CIELab, indicó que el amarillamiento (b = 41.4, 27.4, 36.3 y 32.4) y el enrojecimiento (a = 5.4, 3.7, 5.2 y 3.8) se mejoraron con la adición de betaina (P < 0.05). En el segundo experimento, se utilizaron 360 pollos Ross x Ross mixtos de un día de edad, los cuales fueron distribuidos al azar en 4 tratamientos con tres réplicas de 30 aves cada una. Se empleó un diseño completamente al azar, con arreglo factorial 2x2; un factor fue con y sin la adición de 750 ppm de betaina de 1 a 49

días de edad y el otro factor la suplementación de los 21 a los 49 días de edad de xantofilas de flor de cempasúchil altas y bajas en zeaxantina (70 y 90 ppm respectivamente), en pollos que fueron desafiados a los 21 días de edad con E acervulina 5x10⁵ ooguistes. Los resultados a los 49 días de edad para peso promedio (2470, 2436, 2463 y 2455 g), ganancia de peso diaria (50.4, 49.7 50.2 y 50.1 g), consumo de alimento (4473, 4379,4448 y 4426 g) y conversión alimenticia (1.811, 1.798, 1.806 y 1.803) no mostraron diferencia significativa (P < 0.05) entre tratamientos. La evaluación de la pigmentación en la piel de la pechuga con un colorímetro de reflectancia R-300 en el sistema CIELab, indicó que el amarillamiento (b = 42.7, 38.9, 41.73 y 40.0) se mejora con la adición de betaina (P < 0.05).Para el enrojecimiento (a = 6.5, 5.9, 6.3 y 5.6) no hubo diferencia significativa (P < 0.05) para el nivel alto y bajo en zeaxantina. Los niveles de luteína séricos (62.1, 62.8, 26.9 y 26.0 μg/ml) no mostraron diferencia (P < 0.05) con la adición de betaina, solo hubo efecto (P < 0.05) para la fuente del pigmento. La grasa abdominal de los canales (2.3, 3.2, 2.6 y 2. 9 g) mostró menor depósito (P < 0.05) en los tratamientos con betaina; así como el conteo de ooquistes para la última semana (2.8, 15. 9, 15. 9 y 30.6). Se concluye que la adición de betaina en la dieta a razón de 750 ppm aumenta la pigmentación de la piel de la pechuga en pollos de engorda, mejora la absorción de luteina, disminuye la grasa en la canal y contrarresta los efectos negativos de la infección por coccidiosis. El uso de pigmentos altos en zeaxantina no mostró ningún beneficio en comparación con los pigmentos ricos en luteina.

Angel Manuel Ornelas Roa

In order to know if betain addition to broiler diets has an influence on skin pigmentation, 2 experiments were performed. In the first experiment, 360 1 dayold Arbor Acress chickens were randomly assigned into four treatments with 3 pens fo 30 birds each. A 2x2 factorial arrangement with a completely randomized design was employed. Addition of 750 ppm of betain and no addition of it were the two levels of the first factor; the other factor was marigold saponified xanthophylls addition, in two levels: low and high in zeaxanthin (60 and 70 ppm, respectively). Both factors were used on sorghum-soybean meal diets; betain was used from 1 to 49 days of ages whereas pigments were employed from 21 to 49 days of age. Results at 49 days for body weight (2446, 2421, 2454 and 2412 g), daily weight gain (49.9, 49.4, 50 and 49.2 g) and feed conversion (2.08, 2.081, 2.126 and 2.036) showed no significant difference (p<0.05) among treatments. Pigmentation assessment on breast skin, performed by means of an R-300 colorimeter of reflectance following CIELab system, indicated that yellowness (b) (41.4, 27.4, 36.3 and 32.4) and redness (a) (5.4, 3.7, 5.2 and 3.8) were improved when betain was added (p<0.05).

In the second experiment, 360 1-day-old Ross x Ross chickens were randomly assigned into 4 treatments with 3 pens of 30 birds each. A completely randomized design in a 2x2 factorial arrangement was employed. Addition of 750 ppm of betain and no addition of it were the two levels of the first factor; the other factor was addition of marigold saponified xanthophylls, in two levels: low and high in zeaxanthin (70 and 90 ppm, respectively), to sorghum-soybean meal diets. At the age of 21 days, chickens were challenged with 5x10⁵ Eimeria acervulina oocysts.

Results at 49 days of age for body weight (2470, 2436, 2463, 2455 g), daily weight gain (50.4, 49.7, 50.2, 50.1 g) feed intake (4475, 4579, 4448, 4426 g) and feed conversion (1.811, 1.798, 1.806, 1.803) showed no significant difference among treatments (p<0.05). Skin pigmentation assessment, performed by means of a R-300 colorimeter of reflectance following CIELab system, showed that yellowness (b) (42.7, 38.9, 41.73, 40) is improved when betain is added (p<0.05). For redness (a) (6.5, 5.9, 6.3 and 5.6) there was no significant difference when given high zeaxanthin pigment (p<0.05). Lutein levels in serum (62.1, 28, 26.9, 26 μ g/ml) showed no difference with betain addition (p<0.05) only for pigment source an effect was seen (p<0.05). Abdominal fat (2.3, 3.2, 2.6 and 2.9) showed lower deposition (p<0.05) in treatments where betain was included, as well as oocysts counts (2.8, 15.9, 15.9 and 30.6) during the last week.

It can be concluded that when betain is added at a dose of 750 ppm, breast skin pigmentation is increased, lutein absorption is improved, carcass fat is decreased and finally, coccidiosis infections can be counteracted by betain addition. No benefit was observed when high zeaxanthin pigments were employed, compared with high lutein pigments.

INTRODUCION

En la Avicultura Mexicana, uno de los problemas de importancia económica es la pigmentación de los productos avícolas, piel y yema de huevo. Los sistemas de producción avícolas bajo condiciones de confinamiento, lo que provoca que las aves no tengan libre acceso a vegetales ricos en xantofilas, por lo cual incluir ingredientes proveedores de xantofilas, como maíz amarillo, gluten de maíz, harina de alfalfa, extractos de xantofilas de flor de cempasúchil o pigmentos sintéticos (amarillos, rojos) y extractos de xantofilas de chile. ¹ Es necesario las dietas formuladas para aves en postura o pollos en engorda

La importancia del uso de estas sustancias pigmentantes, esta dada como consecuencia de la demanda del público y no por las necesidades nutricionales de las aves. En México los compradores de pollo pagan mejor las aves que tengan la piel y patas amarillas o color naranja que aquellas que no las tienen o presentan una coloración más clara.²

En el mercado del pollo de engorda cada vez más se esta buscando la coloración amarillo naranja en la piel y patas de la los pollos, esta pigmentación se puede lograr con la combinación de pigmentos ricos en luteína que dan una coloración amarilla y la zeaxantina que da un color más intenso o bien adicionándo pigmentos ricos en capsantina o cantaxantina que dan coloración rojiza ¹. En la

industria de los pigmentos, se están desarrollando pigmentos a partir de la flor de cempasúchil, que aparentemente reúnen estas características y son los llamados pigmentos altos en zeaxantina, que ofrecen dicha tonalidad amarillo naranja, pero presentan mucha disparidad en su pigmentación en la piel y patas del pollo para el abasto.³

Sin embargo, la pigmentación de la piel de pollo o de la yema del huevo no depende solamente de la edición de los pigmentos correctos en la dieta ya que existen otros factores involucrados, factores genéticos, (sexo y edad) estado sanitario, condiciones de alojamiento, manejo, condiciones de ingredientes de la dieta, tipo y porcentaje de grasa y la presencia de micotoxinas. Enfermedades digestivas como coccidiosis, producida por un parásito (*Eimeria sp*) que invaden y destruye el epitelio intestinal o cecal ⁴. Al hacerlo, estos parásitos inhabilitan al animal para subir de peso, convertir alimento o pigmentar la piel del ave en una forma correcta. Con el uso de los coccidiostatos se ha tratado de evitar estos problemas, pero no se ha logrado hacerlo totalmente por que depende de las condiciones de manejo que se encuentren nuestras granjas, tales como camas humedad que ayudan a reproducir este parásito, es por esto que se están buscando continuamente drogas capaces de solucionar el problema ⁵.

BETAINA

El uso de la betaína en la industria Avícola en un principio fue como donadora de grupos metilo para sustituir parcialmente al aminoácido metionina, sin embargo no resultó muy eficiente. Pero los estudios recientes han mostrado que la betaina tiene la capacidad la de ser un buen osmoprotector y osmorregulador de las células intestinales, ádemas de establecer una posible sinergia con los coccidiostatos para evitar los problemas ocasioandos por infección de Coccidio. 6

Con base a lo anterior se realizó el presente estudio en pollo de engorda con la finalidad de investigar, si la adición de betaina mejora la pigmentación de la piel en el pollo de engorda.

PIGMENTOS

El pigmento es un compuesto químico que absorbe energía luminosa en longitudes de onda de la región visible. El color impartido se debe a la presencia de una estructura específica en la molécula, que al absorber energía provoca la excitación del orbital más externo a un orbital superior, la energía no absorbida por la substancia es reflejada y depende del cromóforo, al arribar al ojo provoca impulsos neurales que son enviados al cerebro donde pueden ser interpretados como un color ⁷. Los pigmentos pueden clasificarse de acuerdo a su origen en; naturales, artificiales o inorgánicos.

Los pigmentos naturales deben provenir de un organismo vivo y los podemos encontrar en plantas, animales, hongos y microorganismos. En tanto que los colorantes artificiales son sintetizados en el laboratorio es decir ambos grupos, pueden ser encontrados en la naturaleza o ser reproducidos mediante síntesis ^{8,9}.

CLASIFICACION

En cuanto a la estructura química del cromóforo, los pigmentos se clasifican como:

- a) Cromóforos con sistemas conjugados: carotenoides, antocianinos, caramelos, colorantes artificiales y sales de colorantes artificiales.
- b) Porfirinas metalo cordinados: mioglobinas, clorofilas y sus derivados. 10,11

A su vez los pigmentos naturales pueden clasificarse en otros grupos de acuerdo a su estructura: 1,12

- a) Derivados de tetrapirroles; clorofila y colorantes hemo.
- b) Carotenoides.
- c) Compuestos N-heterocíclicos distintos de tetrapirroles, purinas, pterinas, flavinas y fenazinas
- d) Derivados de benzopiranos, compuestos heterocíclicos oxigenados, antocianinos y otros pigmentos flavoides.
- e) Quinonas, benzoquinona, naftoquinona y antraquinona.
- f) Melaninas.

<u>Carotenoides</u>: Los carotenoides son compuestos que por lo general están constituidos por ocho unidades isoprenoides (ip), arregladas de manera que su ordenamiento se invierte en el centro de la molécula.

Todos los carotenoides pueden ser considerados como derivados del licopeno C40 H 56 en reacciones que involucran; a) Hidrogenación, b) deshidrogenación, c) ciclización, d) inserción de oxigeno, emigración de doble enlace, f) fumigación de metilo, g) elongación de cadena y acortamiento de cadena.¹¹

Los carotenoides se clasifican por su estructura química en: 12,13

- 1.- Carotenoides, sustancias constituidas por carbono e hidrogeno.
- 2.- Oxicarotenoides o xantofilas, compuestos que contienen carbono, hídrógeno y oxígeno.

Otra forma de clasificarlos es como primarios y secundarios. Los primeros son aquellos necesarios en las funciones fotosintéticas de plantas. Beta caroteno, luteina, violaxantina y neoxantina; mientras que, los secundarios, son los que se presentan en frutos y flores como alfa caroteno, beta criptaxantina, capsantina. Los carotenoides presentan el grupo más ampliamente distribuido de pigmentos; se han encontrado en organismos fotosintéticos y no fotosintéticos, desde plantas superiores, algas, hongos, bacterias y en al menos una especie de casi todas las formas de vida animal. Los carotenoides son los responsables de muchos de los

colores rojo brillante, amarillo naranja que presentan frutas, verduras, hongos, flores así como aves, insectos, crustáceos y truchas. 12,13

La producción total de carotenoides en la naturaleza ha sido estimada en 10³ toneladas por año, la mayor parte de la producción se encuentra en cuatro carotenoides; fucoxantina, en algas marinas y los carotenoides presentes en hojas verdes, luteína, violaxantina y neoxantina ¹³. Los carotenoides se acumulan en los cloroplastos de todas las plantas verdes como una mezcla de alfa y beta caroteno, beta criptoxantina, luteína, zeaxantina, violaxantina y neoxantina. Estos pigmentos se encuentran formando complejos mediante enlaces no covalentes con proteínas y por lo general sin esterificar en las hojas verdes, pero conforme estas envejecen y los cloroplastos son desintegrados, las xantofilas liberadas al citoplasma son esterificadas.^{11,15,16}

Efectos farmacológicos.

Muchas de las enfermedades, incluyendo el cáncer y apoplejías involucran procesos oxidativos mediados por radicales libres y los carotenoides evitan que estos radicales sean liberados; sin embargo, no está plenamente demostrado invivo ¹⁷. Los carotenoides permanecen inmersos en la membrana, en cuanto las xantofilas, los grupos polares afectan gradualmente su posición y movilidad en la membrana. La zeaxantina está en una posición que atraviesa la membrana, de esta manera los carotenoides son capaces de reaccionar eficientemente sólo con

los radicales generados en la parte interna de la membrana. En tanto que la zeaxantina al estar expuesta mediante sus grupos polares al medio acuoso, es capaz de reaccionar con los radicales generales de esta zona. Adicionalmente los carotenoides pueden tener una influencia sobre la fuerza de la membrana, afectando de esta manera su permeabilidad a oxígeno y otras moléculas. 15,16

Bendich ¹⁵, señala que el beta-caroteno tiene un marcado efecto sobre el sistema inmune inhibiendo de esta manera el crecimiento de tumores en ratones. En contraste señalan que el ácido retinóico y el citral actúan como supresores de este sistema. Sin embargo Cippitelli y Cols demostraron que el ácido retinoico regula al gen de interferón el cual a su vez tiene un papel importante en prácticamente todas las fases del sistema inmune y de la respuesta inflamatoria. ¹⁷

De los más de 600 carotenoides conocidos, 50 de ellos son consumidos a través de los alimentos para ser transformados en el nutriente esencial vitamina A.

Estos carotenoides después de ser absorbidos, son metabolizados por rendimiento oxidativo a retinal, ácido retinoico y pequeñas cantidades de los productos de rompimiento. Los carotenoides son transportados por lipoproteinas en el plasma. Los carotenoides se asocian principalmente a las lipoproteinas de baja densidad en tanto que las xantofilas se distribuyen uniformemente entre las de baja y alta densidad ¹⁷. Los carotenoides son lípidos y por lo tanto son solubles

en otros lípidos o en solventes no polares. El color de los carotenoides es debido a dobles enlaces conjugados, los cuales están primordialmente en posición trans, en forma natural, en forma extendida, por lo que son moléculas lineales y rígidas.

Las propiedades de los isómeros cis difieren substancialmente de los compuestos trans. La tendencia de los carotenoides cis a cristalizar o formar agregados es menor que la de los trans, por lo que estos pueden ser más facilmente solubilizados, absorbidos y transportados. Los factores que causan isomerización son halógenos libres, ácidos, luz excesiva y altas temperaturas. 18,19

Los dobles enlaces conjugados de los carotenoides están altamente deslocalizados por lo que el estado excitado de estos compuestos es de baja energía, lo que permite que la energía para la transmisión este en la región del visible (400 a 500 nm) y que los carotenoides sean compuestos intensamente coloreados (amarillo, naranja o rojo). Por lo que, esta propiedad les permite estar involucrados en los procesos de fotosíntesis y fotoprotección. 20,21,22

La cadena polieno de los carotenoides los hace altamente reactivos, el sistema rico en electrones es susceptible a un ataque por reactivos electrofilicos, es responsable de la intensidad de los carotenoides hacia la oxidación de las características químicas del radical. Los carotenoides en estado cristalino son susceptibles de oxidación después del aislamiento y son rápidamente

degradados si son almacenados en presencia de trazas de oxígeno ²³. Los electrones de la cadena polieno están deslocalizados, pero no de manera uniforme, la densidad electrónica es superior en los extremos de la molécula, por lo que esta en su parte más reactiva. Esto se observa en las reacciones de epoxidación, donde la reacción ocurre perfectamente en los carbonos 7 y 8 disminuyendo la reactividad con la presencia de grupo ceto. ^{24,25}

A pesar de que las cantidades de pigmentos, que se requieren para la suplementación de los alimentos para aves son pequeñas estás, representan un considerable costo para los productores, lo que justifica la realización de estudios para hacer más eficiente el proceso de pigmentación ². De la gran cantidad de carotenoides descubiertos e identificados, en la actualidad, solamente existen tres carotenoides amarillos con importancia económica que se agregan a los alimentos de las aves; etil-ester del ácido apocarotenoico, conocido genéricamente como apoester, es una molécula de origen sintético, de color amarillo-naranja (Figura 1).

Luteína, es una molécula de color amarillo presente en varios vegetales como la alfalfa, los granos de maíz amarillo, la flor de cempasúchil, etc. (Figura 1)

Zeaxantina, es una molécula de color naranja, presente en varios vegetales como la alfalfa, los granos de maíz amarillos, la flor de cempasúchil, etc. (Figura 1)

En el caso de la luteína y la zeaxantina, la forma de producción comercial, consiste en sembrar y cosechar la flor de cempasúchil, a partir de la cual, por un proceso de deshidratación e hidrólisis alcalina (conocido como saponificación) se obtiene estos pigmentos. Debido a que el nombre científico de la flor de cempasúchil es (*Tagetes erecta*), se conoce genéricamente a los carotenoides de la flor como pigmentos de tagetes. La composición de las xantofilas de Tagetes para comercializar es de un 80 a 90% de luteína, 5% zeaxantina y de un 5 a 15% de carotenoides como violaxantina, criptoxantina, etc., sin valor pigmentante para las aves. Al someter los extractos de Tagetes a la acción del hidróxido de sodio por un tiempo mayor al necesario para que se realice la saponificación, se transforma parte de la luteina en zeaxantina, existiendo actualmente xantofilas de flor de cempasúchil comercial con un contenido de zeaxantina de 30 a 60%, disminuyendo la proporción de luteína en el rango de 50 a 60 %.

La transformación consiste en el cambio de posición en un doble enlace de la molécula. Sin embargo, debido a que la zeaxantina y la luteína poseen dos carbonos asimétricos, estas moléculas presentan lo que se conoce como isomería óptica, la importancia de esto radica en que solamente el, isómero RR se deposita cuantitativamente en la piel de pollo, mientras que los isómeros RS y SS no, por lo tanto la actividad óptica de esta molécula a nivel de piel de pollo es nula ³.

Durante el proceso de transformación de la luteína en zeaxantina, hasta un 90% de la nueva zeaxantina consiste de isómeros RS y SS, por lo tanto la actividad pigmentante de los tagetes altos en zeaxantina a nivel de piel en pollo es muy pobre ³, en un estudio realizado por Hencken, en pollo de engorda encontró que la zeaxantina se depositaba en la piel en un 1.7%.²⁰

Con la finalidad de optimar el proceso de pigmentación, desde hace varios años se implementó el uso de concentrados de pigmentos puros, generalmente sintéticos, como el apo-ester (amarillo) y la cantaxantina (rojo), disminuyendo de esta manera la variabilidad y biodisponibilidad inherente a las fuentes naturales ^{25,26}. Para el pollo de engorda, el único pigmento rojo que se deposita cuantitativamente en la piel, es la cantaxantina, la xantofila disponible comercialmente es de síntesis química; sin embargo, esta molécula existe en la naturaleza, en las plumas y piel del flamingo, en la piel de el faisán, así como en varias algas y hongos; de hecho, este carotenoide fue aislado por primera vez a partir del hongo comestible (*Cantharellus cinnabarinus*) de aquí se deriva el nombre da cantaxantina. Al igual que en el caso del apoester, la presentación comercial de la cantaxantina facilita un buen mezclado y protege a la molécula de la oxidación.^{3,21}

Existen otros factores que influyen en la absorción de carotenoides; Hencken ¹⁹ menciona que la influencia de los ácidos grasos enlazados a carotenoides sólo ha

sido estudiada en salmón y usando astaxantina. En general concluye que en animales con pobre habílidad para absorber grasa el rompimiento de los ésteres de carotenoides también es pobre, disminuyendo su absorción. Tyczkowski y Hamilton²⁴, informaron que entre mayor sea la cadena de ácidos grasos, menor será la absorción; que los ácidos grasos insaturados aumentan la absorción cuando las cadenas de ácidos grasos son largas y además mencionó que un incremento en el porcentaje de grasa añadida a la dieta mejora la absorción de carotenoides.

Fletcher y Halloran ²³, evaluaron el efecto de la saponificación en la utilización del extracto de flor de cempasúchil por polios, concluyendo que la saponificación de xantofilas mejora la capacidad de colorear la piel. Al evaluar el efecto de la saponificación en la pigmentación de la yema del huevo no encontraron diferencias significativas con el producto sin saponificar, por lo que asume que esto se debe a una marcada difencia entre los mecanismos de deposición o diferencias entre los mecanismos de absorción de pigmentos ²⁶. El sitio principal de absorción se lleva a cabo en el intestino delgado sobre todo en el asa duodenal y en la parte proximal del yeyuno. En el caso de los beta-carotenos, la absorción se efectúa en la parte distal del intestino. La absorción de los carotenoides se lleva a cabo mediante un mecanismo pasivo seguido de un gradiente de concentración en donde la luteína en forma libre es absorbida rápidamente, aunque en este modelo, el papel de re-esterificación de la luteína

libre no es claro, pero puede ser favorecido por las condiciones existentes en el intestino. Después de cruzar la barrera intestinal, la luteina libre representa el 96% del total, mientras que el 4% restante es en forma mono-ester. Los carotenoides presentes en el plasma no están esterificados y generalmente se concentran en la fracción de la lipoproteina de alta densidad que funciona como transportador de las xantofilas hacia los órganos blanco⁴. Se ha encontrado una relación lineal entre la concentración de proteínas helicoidales y el contenido de carotenoides las fracciones lipoproteicas de alta densidad procedentes de aves sanas. La infección con (E. acervulina) destruye esta relación lo que hace pensar que la infección altera de alguna manera la estructura de la apolipoproteina A-1 (principal componente de la proteína LAD 93% en apo A-1). En el hígado, la luteína libre representa cerca del 80% mientras que los mono-esteres representan el restante 20%. En la grasa subcutánea, la luteína es esterificada y la forma dominante es la luteina di-ester. Los carotenoides del alimento son depositados en varios tejidos en diferente proporción.²⁶ En el estudio de Tyczowski y Hamilton²⁴, se usó HPLC y analizaron muestras de

En el estudio de Tyczowski y Hamilton²⁴, se usó HPLC y analizaron muestras de suero, hígado, yeyuno e intestino grueso de las aves alimentadas con una dieta rica en diésteres de luteína (89.5%), encontrándose que la composición de carotenoides del suero de aves alimentadas con el diéster difieren marcadamente de la dieta, y de las que se presentan en el intestino, ahí observaron como el diéster de luteína es hidrolizado parcialmente en el intestino de manera que luteína monoéster y libre constituyen más del 50% de la luteína

total, esto al parecer tiene una relación con el proceso de absorción. Así mismo establecen que la luteína se transporta por el suero principalmente en forma libre 90% o como monoéster 10%. 24,25,27

En otro estudio de Tyckowski y Hamilton²⁷ plantearon el uso de lutéina como modelo para estudiar el metabolismo de carotenoides, en ese estudio analizaron el perfil de carotenoides en diferentes tejidos para aves alimentadas con dietas basadas en maíz blanco suplementado con luteína. Encontrándose que en el intestino la luteína se encuentra como diéster, mientras que la luteína libre y el monoéster en cantidades aproximadamente iguales.^{25,28}

El encontrar que la luteína es acilada contrasta con el informe de Tyczkowski y Hamilton,²⁷ en el que ocurre una desacilación del diéster, lo que probablemente implica un papel para estas interconversiones en el proceso de absorción. Este estudio también apoya que la luteína se transporta por el organismo en forma libre y al ser depositada en el tejido intertegumentario se esterifica.²⁷

La pigmentación de los pollos o huevos no consiste solamente en tener los oxicarotenoides correctos en la dieta o la ración, ya que hay otros muchos factores involucrados. Entre ellos juegan un papel importante el origen genético de los animales, el sexo y edad, su estado sanitario, las condiciones de alojamiento y manejo, otros ingredientes de la dieta, como tipo y porcentaje de grasa, la presencia de micotoxinas; especialmente la ocratoxina, reduce la

pigmentación al impedir la absorción y transporte de los pigmentos. Durante una aflatoxicosis en pollos de engorda y gallinas de postura se produce una hipocaroteinemia, lo cual fue demostrado correlativamente entre carotenoides séricos y pigmentación. La aflatoxina altera la esterificación de la luteina en el contenido intestinal, disminuye la absorción y transporte de luteína, incrementa el secuestro de luteína en el hígado debido a una baja disponibilidad de las formas esterificadas y por consiguiente, disminuye el depósito de pigmento en la piel y yema de huevo.⁴

COCCIDIOSIS

Dentro de las enfermedades digestivas que más afectan a la industria avícola está la coccidiosis, que es producida por parásitos (*Eimeria sp.*) que invaden y destruyen el epitelio intestinal o cecal. Al hacerlo, estos parásitos inhabilitan al animal para aumentar de peso y convertir alimento en carne de manera eficiente, debido a que estos efectos rápidamente se traducen en pérdidas económicas para el avicultor²⁷⁻²⁹. La administración de anticoccidianos en el alimento, redujo en las dos últimas décadas la intensidad de las presentaciones clínicas de la enfermedad; el modo diferente de acción de cada uno de ellos como así también su espectro de actividad característico, junto con la inevitable aparición de formas de resistencia, no logró que la coccidiosis pudiera ser controlada en forma absoluta, dando lugar a la aparición de casos más leves de la enfermedad que reciben el nombre de coccidiosis subclínicas²⁹. En función de ello, deben establecerse estrategias en el uso de los anticoccidianos que permitan reducir las

presentaciones subclínicas de la enfermedad³⁰.El daño que la coccidiosis subclínica produce, estará en relación con la especie de coccidia actuante, con la edad de los animales y con el nivel de desafio parasitario. Las especies de coccidios que normalmente producen coccidiosis subclínicas son (*Eimeria acervulina*, *Eimeria maxima*, *Eimeria mitis y Eimeria praecox.*), que parasitan el duodeno, yeyuno e ileón de las aves³¹. Con respecto a los grados de infección, se ha comprobado que las coccidiosis subclínicas a pesar de cursar con ausencia de signos clínicos y escasas o nulas lesiones macroscópicas, provoca efectos adversos en los parámetros de producción. Experimentalmente se calculó que la coccidiosis subclínica produce un aumento del 2-8% en el índice de conversión alimenticia, una merma de 50-100 gramos en la ganancia de peso y una disminución del 6-20% en el nivel de carotenoides plasmáticos, lo que se asocia a una menor pigmentación de la piel del pollo de engorda^{5,30}

El momento de la infección es importante, el periodo crítico de esta entidad para las aves se ubica entre la tercer y quinta semana de vida, donde los requerimientos del animal son máximos, coincidiendo este lapso con la mayor frecuencia de casos debido a *E. acervulina, y Eimeria maxima*. Si la infección se produjera durante la quinta semana teniendo en cuenta que son necesarias entre dos y tres semanas para recuperarse de la enfermedad, las aves llegarían al rastro sin tiempo para realizar un crecimiento compensatorio adecuado y una muy pobre pigmentación²⁹. Debido a que los carotenoides se encuentran en el plasma

del pollo en forma no esterificada y se concentran primordialmente fracción lipoproteica de alta densidad (LAD), durante la infección con Eimeria acervulina la fracción LAD disminuye y los niveles de carotenoides y proteínas descienden proporcionalmente. No se encuentra correlación en la variación de los carotenoides de LAD y otros lípidos de la misma fracción. Estos resultados sugieren que los carotenoides están enlazados de alguna manera a la proteína de LAD. La principal proteína de las partículas LAD es la apolipoproteina A-1. Se sabe que esta proteína posee un elevado contentenido de hélice^{5,29,31} y se ha postulado que las regiones hecoidales pueden suministrar lugares de enlace a los carotenoides⁵. Se ha encontrado una relación lineal entre la helicidad y el contenido de carotenoides en las fracciones LAD procedentes de pollos de engorda sanos. La infección con (E. acervulina.), destruye esta relación lo que hace pensar que la infección altera de alguna manera la estructura de A-1 . Los análisis electroforéticos de dos dimensiones de apo A-1, han demostrado que la infección coccidiana al agregarse a la disminución de la cantidad total de apo A-1, provoca un decenso de la proporción de la cantidad total de apo A-1, provoca un decenso de la proporción relativa de la forma más básica de las dos isoformas de apo A-1 en el plasma. Estos resultados son congruentes con el concepto sugerido por Tyczkowski y Hamilton de que se precisa de un transportador de proteínas para la absorción de los carotenoides de la dieta.²⁴

También se sabe que la estructura estereoquímica de los carotenoides afecta las tasas de absorción y que la luteina se absorbe mejor en pollos que en aves de

postura. Por lo tanto, es de suponerse que la absorción de los carotenoides requiere de la presencia de un transportador de proteínas estereoespecifico de la especie en cuestión, y que el apo A-1 satisface estos requisitos. 32,33

Otro desorden que causan las especies de coccidia es una baja en la absorción de nutrientes, enteritis y muerte. En la coccidiosis cecal hay una baja en la absorción de líquidos a nivel de ciegos dando un desbalance osmótico presentándose; el hematocrito reducido, la glucosa y prolactina se elevan después de siete días postinfección, el desbalance osmótico esta relacionado con un aumento de la concentración de prolactina. Por otro lado la *E. necatrix* provoca una baja en la capacidad de la bomba de sodio y potasio en un 53%, la actividad de la ATPasa para calcio y magnesio, baja un 60%. Hay que recordar que la ATPasa es necesaria para facilitar el transporte activo de la membrana, también existe un descenso en el pH duodenal. 6.34

BETAINA

Una substancia que puede mejorar esta baja en la capacidad de la bomba de sodio y potasio y actuar como osmoprotectora, es la betaina. El uso de la betaína en la nutrición animal fue por vez primera por Vigneaud a principios de la década de los cuarenta. La betaína es un compuesto natural con importantes funciones en el metabolismo animal y de plantas. Químicamente la betaína es un compuesto amonio cuaternario, con tres grupos metilo unidos al átomo de nitrógeno de una molécula de glicina. Las propiedades químicas de la betaína son

debidas a su estructura bipolar y a sus grupos metilo químicamente reactivos, quienes pueden donar reacciones enzimo-catalíticas. La betaína es utilizada en la mayoria de los organismos como fuente de grupos metilo en reacciones de metilación, pero solamente unos pocos acumulan betaína en concentraciones altas. De ahí que la betaína no esté presente, en cantidades significativas, en la mayoría de los animales. 35,36

Las plantas pertenecientes a la familia Chenopodiaceae (remolacha azucarera), algunos microbios e invertebrados marinos, son los acumuladores de betaina más conocidos. La betaína es un compuesto que es sintetizado por la colina de la siguiente manera; la colina proporciona los grupos metilo lábiles para la formación de metionina a partir de la homocisteina y de creatinina a partir del ácido guanidoacético, para esta función la colina debe ser convertida a betaína, está se ha visto que realiza funciones de metilación en pollos, también como la colina, la betaína en las aves funciona como un regulador de la presión osmótica de la siguiente manera. En los riñones e intestino delgado así como en los ciegos, se mantiene una osmoregulación corporal, en el agua que es ingerida, así como el alimento digerido es oxidado por el metabolismo, al igual que el agua es evaporada a través de la orina, heces y secresiones de las glándulas para mantener el balance osmoregulatorio. 6.37-39

Cuando el ave es afectada por la diarrea, el balance osmótico es alterado, la diarrea puede ser producto de la infección por protozoarios como las coccidias, bacterias como, E. coli. virus y hongos. También la diarrea puede ser ocasionada por un excesivo consumo de agua, sodio, cloro, potasio, sulfato de magnesio y carbohidratos indigestibles. La diarrea en las aves provoca que la cama se humedezca provocando un aumento en amoniaco y la proliferación de coccidias, así como de otros patógenos.³⁸

Lowry y cols.⁴⁰ evaluaron la eficacia de la betaína en pavas con diarrea y adicionaron betaína en el agua de bebida a razón 2.5 g/l. cada 24 horas durante 69 días, a partir de entonces se han realizado numerosos estudios con la betaina para reducir diarreas.

Las diarreas en las aves causadas por bacterias y virus estimulan la adenil ciclasa incrementándose la actividad secretora de las criptas de las células intestinales y una baja notoria en la absorción de sodio y cloro dando como resultado una solución hipermolar en el lumen intestinal. Una posible hipótesis del potencial que tiene la aplicación de la betaína exógena para aliviar la diarrea en las aves, puede estar relacionado con un aumento en el gradiente de la betaína en las respuestas al transporte celular así como la hiperosmolaridad y la subsecuente acumulación de betaína en el epitelio de las células intestinales, ejerciendo un efecto protectivo sobre la integridad y función de la célula. 39,41-43

La coccidiosis en las aves causada por un protozoario del género *Eimeria*, provoca diarrea la cual conduce a una deshidratación. *E. Tenella*, causa coccidiosis cecal de gran importancia comercial en pollo de engorda causando una alta mortalidad y morbilidad. La coccidiosis, provoca una baja en la absorción de nutrientes, enteriris y eventualmente la muerte en casos severos una baja en los fluidos dando como resultado un deterioro en el balance osmótico. 41,42,44

Chadwick y cols. 45 evaluaron en el plasma la concentración de prolactina, glucosa, sodio y potasio después de la infección con *E. tenella*. Los electrolitos en el plasma no presentaron variación, el hematócrito fue reducido, la glucosa y prolactina resultaron elevados siete días postinfección. Estos autores concluyen que la *E. tenella*. induce una baja en los líquidos corporales en las aves y un deterioro en el balance osmótico directamente relacionado con un incremento de la concentración de la prolactina. 40 - 43. Gwyther y Britton 47 mostrarón que las hembras de pollo de engorda desafiándolas con 1x10 oquistess esporulados de *E. necatrix*. da un decremento en sodio y potasio así como el calcio y magnesio y la actividad de la ATPasa. El sistema de enzima-ATPasa facilita la actividad del transporte de membrana.

Las células renales poseen una transportación activa de sodio dependiente de la betaína que se incrementa cuando hay un estrés osmótico in vitro^{40,43}. Handler

y Kwon realizaron una revisión bibliográfica de la regulación renal de las células osmóticas.⁴⁸

La betaína en la célula tiene un transporte activo, teniendo su pico a las 24 horas postadministración de betaina en el medio, al cambiar la tonicidad celular hay un incremento en la transcripción de genes en los cotransportadores sodio-clorobetaina, esto no esta muy esclarecido; sin embargo, si las aves poseen; betaina en las células intestinales los procesos de transporte celular se mejoran. En estas revisiones la betaina es un efectivo termorregulador de las bacterias, plantas y animales.^{49,50}

Por otro lado la habilidad de la betaina para contribuir indirectamente, con la donación de grupos metilo lábiles para la síntesis de carnitina via S-adenosyl metionina. La carnitina es requerida para transportar cadenas de ácidos grasos al interior de la membrana mítocondrial por oxidación de los mismos.La suplementación dietaria de colina baja la excreción urinaria de carnitina en los humanos y cuyos^{51,52}. Así la transportación de ácidos grasos dentro de las células y mitocondrias puede ser incrementada por una deficiencia de carnitina. La deficiencia de colina da como resultado hígado graso tanto en ratas como en pollos, en la rata la oxidación de colina por las mitocondrias del hígado resulta la formación de betaina. Chamberts y Kunin⁵³ demostraron que la betaina esta presente en altas concentraciones en la mitocondria del hígado de las ratas.

Una secreción subóptima de lipoproteina de baja densidad en cultivos de hepatocitos aislados mostraron que la suplementación con betaina corregía la deficiencia de colina. Estos estudios soportan la hipótesis que las funciones de la betaina pueden ayudar a la colina para formar fosfolipidos⁵¹. Coffey y Cols.⁵⁴ reportaron un 12% menos del grosor de la grasa del lomo en cerdos alimentados con dietas suplementadas con betaina. Saunderson y Mackinlay 52; observaron en pollos de engorda, una reducción de la grasa abdominal de la canal en dietas suplementadas con metionina, comparadas con dietas que contenían metionina y colina 88.2 contra 75 g de grasa en la canal por kg de peso. Sin embargo la combinación de betaina con metionina no siempre presenta estos resultados y por lo tanto hace falta mayor investigación. La betaina esta involucrada en el metabolismo de fosfolipidos y la reducción de grasa de la canal por que indirectamente contribuye a la donación de grupos metilo y a la síntesis de carnitina vía S.adenosil metionina; la energía es generada en las células del cuerpo por oxidación de hidratos de carbono y ácidos grasos y esta es almacenada en el cuerpo principalmente. La capacidad de oxidación de los ácidos grasos del organismo, donde la carnitina juega un papel determinante, transportando ácidos grasos de cadenas largas a las mitocondrias, en forma de coenzimas de la carnitil-acetil-translocasa, donde la energía es puesta a disposición en forma de ATP, favoreciendo en forma adicional los procesos de glucogénesis y cetogénesis. 52,58

JUSTIFICACION

El uso de la betaina se ha incrementado en los últimos años; cómo donadora de grupos metilos y por ende sustituta de metionina. Sin embargo la betaina también tiene un efecto sobre la osmoregulación de la membrana celular y una posible sinergia con los coccidiostatos ionóforos y asimilación de carotenoides, que debe ser investigado. Por este motivo, se evaluó el efecto pigmentante de un extracto de xantofilas de flor de cempasúchil rico en luteina que da una coloración amarilla en piel y tarsos y de uno alto en zeaxantina que proporciona tonalidad amarillo naranja en piel y tarsos, que es muy buscada en el mercado por el consumidor, en dietas con y sin suplementación de betaina.

OBJETIVOS

- a) Evaluar si el empleo de betaina incrementa la pigmentación de la piel, sin afectar los parámetros productivos tales como; conversión alimenticia, ganancia de peso e índice de productividad.
- b) Evaluar el efecto pigmentante de un extracto de xantofilas de flor de cempasúchil rico en luteina, y de uno alto en zeaxantina.
- c) Determinar si la betaina tiene un efecto sinérgico con los coccidiostatos.

HIPOTESIS

La suplementación de betaina en las dietas de pollo de engorda aporta los siguientes beneficios:

- a) Se potencializa la acción de los coccidiostatos, principalmente los ionóforos, debido a que funcionan con un mecanismo de acción similar.
- b) Favorece la deposición de los carotenoides, dando una mejor pigmentación de la piel de las aves; sin afectar los parámetros productivos.
- c) Se incrementa la tonalidad amarillo y amarillo naranja en la piel del pollo de engorda, tanto con el extracto de xantofilas de flor de cempasúchil rico en luteina como en el alto en zeaxantina.
- d) El pigmento de xantofilas de flor de cempasúchil alto en zeaxantina, da una pigmentación menos eficiente que el pigmento de extracto de flor de cempasúchil rico en luteina.

MATERIAL Y MÉTODOS

El presente estudio se realizó en el Centro de Enseñanza, Investigación y Extensión en Producción Avícola de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México, localizado en Zapotitlán, Tláhuac, Distrito Federal, a una altitud de 2,250 m.s.n.m. entre los paralelos 19º 17' latitud norte y los meridianos 99º02'30'' longitud oeste, con clima templado subhúmedo, y bajo grado de humedad (c (wo) (w)). Enero es el mes más frio y Mayo es el mes más caluroso, la temperatura media anual 16 °C y la precipitación pluvial anual 747 mm

Para la realización de este trabajo se desarrollaron dos experimentos; el primer experimento se llevó a cabo en los meses Julio - Agosto y el segundo en Noviembre y Diciembre con una duración de 1 a 49 días cada uno. Las dietas basales empleadas en los 2 experimentos estuvieron constituidas principalmente por sorgo + soya como se muestra en el Cuadro 1; a estas dietas se les adicionaron los diferentes niveles de betaina, así como los pigmentos de extracto de flor de cempasúchil altos y bajos en zeaxantina a partir del sorgo de la dieta. Las fases de alimentación en cada uno de los experimentos, se llevaron a cabo como sigue:⁵⁵

- a) Iniciación 0 a 21 días con 20 % de proteína y 2950 kcal de EM/kg.
- b) Finalización: 22 a 49 días con 18 % de proteína y 3150 kcal de EM/kg.

Las aves en los dos experimentos fueron sometidas al mismo calendario de vacunación; Newcastle ocular y emulsionado cepa La Sota a los 10 días de edad.

Las aves fueron alojadas en una caseta de ambiente natural con pisos de cemento y cortinas laterales proporcionándoles calor con criadoras catalíticas, las primeras cuatro semanas de vida; posteriormente, la temperatura y ventilación fueron reguladas mediante el uso de cortinas laterales. En los dos experimentos se proporcionó agua y alimento a libre acceso. Se llevaron registros de ganancia de peso, consumo de alimento, conversión alimenticia, porcentaje de mortalidad, otras variables estudiadas se detallan en forma especifica en los experimentos.

A continuación se describe cada uno de los experimentos:

Experimento 1; se utilizaron 360 pollos mixtos de un día de edad, estirpe Arbor Acres x Arbor Acres, distribuidos bajo un diseño completamente aleatorizado con un arreglo factorial 2X2; en el cual un factor fue con y sin la adición de 750 ppm de betaina de 1 a 49 días de edad y el otro factor la suplementación de 21 a 49 días de edad de extractos de xantofilas de flor de cempasúchil bajos y altos en zeaxantina (60 y 70 ppm respectivamente). Cada uno de los cuatro tratamientos contó con tres réplicas de 30 pollos cada una. Los tratamientos se describen a continuación:

- 1.- 60 ppm de xantofila baja en zeaxantina con 750 ppm de betaina
- 2.- 60 ppm de xantofila baja en zeaxantina sin betaina
- 3.- 60 ppm de xantofila alta en zeaxantina con 750 ppm de betaina
- 4.- 60 ppm de xantofila alta en zeaxantina sin betaina

Se evaluó la ganancia de peso, consumo de alimentos, conversión alimenticia, mortalidad y la coloración en la piel de la pechuga con un colorímetro de reflectancia Minolta CR 300*, a las 3,5,6, y 7 semanas de edad. A los 49 dias de edad, fecha en que finalizó el estudio, fueron sacrificados, en un rastro municipal, 15 aves de cada tratamiento (3 de cada réplica), para medir la coloración de la piel de la pechuga con el colorímetro citado. El cual puede medir 20 colores diferentes, sin embargo en el caso de las mediciones para la piel del pollo, se usaron 2 variables, el color rojo (a) y el color amarillo (b).

La luminosidad es una escala que califica la presencia o no de luz, abarcando desde el negro absoluto, con un valor de cero, hasta la brillantez total, con un valor de 100. En el caso de la piel del pollo el rango aceptable para esta variable es entre 46 y 56.³

Con respecto al color rojo, se necesita un mínimo de 2 y para el amarillo un mínimo de 41.

Experimento 2. Se utilizaron 360 pollos mixtos de un día de edad, estirpe Ross x Ross, bajo un diseño completamente aleatorizado con un arreglo factorial 2X2; en el cual un factor fue con y sin la adición de 750 ppm de betaina de 1 a 49 dias de edad y al otro factor la suplementación de 21 a 49 días de edad de extractos de xantofilas de flor de cempasúchil bajos y altos en zeaxantina (70 y 90 ppm respectivamente). Cada uno de los cuatro tratamientos, contó con tres repeticiones de 30 pollos cada una las cuales a continuación se describen:

- 1.-70 ppm de xantofilas bajas en zeaxantina con 750 ppm de betaina
- 2.- 70 ppm de xantofilas bajas en zeaxantina sin betaina
- 3.- 90 ppm de xantofilas altas en zeaxantina con 750 ppm de betaina
- 4.- 90 ppm de xantofilas altas en zeaxantina sin betaina.

Las aves fueron desafiadas con *E. acervulina* 5x10⁵ ooquistes a los 21 dias de edad; para el desafio se utilizó un aislamiento de *E. acervulina* denominado MAR- NL 99 del Departamento de Producción Animal: Aves de la FMVZ - UNAM.

Los ooquistes fueron cosechados esporulados y almacenados como se ha descrito en la técnica por Long y cols $(1996)^{33}$, y Juárez⁵⁹. Tomándose muestras semanales de heces y cama desde la primer semana hasta la séptima,; de estas muestras se realizaron conteos de ooquistes por la técnica de Mcmaster. A la séptima semana se tomaron muestras de sangre con citrato de sodio como

anticoagulante para determinar luteina sérica, con la siguiente técnica; 0.5 ml de plasma se le adiciono 2ml de acetona para precipitar las proteínas de forma simple, centrifugándose 10 minutos a 2800 revoluciones por minuto. La absorbancia fue determinada una hora después por análisis de espectofotometría con longitud de onda 456 nm usando un beta- caroteno como estándar³⁶. A la séptima semana también se sacrificaron 5 aves por tratamiento o réplica para determinar la grasa de la canal, tomándose en cuenta la grasa abdominal y la de alrededor de la molleja, expresándose los resultados en gramos.

Otras variables estudiadas fueron similares a las mencionadas para el Experimento 1.

El modelo estadístico utilizado para los 2 experimentos fue un arreglo factorial 2x2, bajo un diseño completamente aleatorizado empleando para analizar las variables en estudio, el siguiente modelo. 56,57

$$Y ij k = u + Nti + Saj + (NtxSA) ij + Eij k$$

Donde

Y ij k = Valor de la variable de respuesta (ganancia de peso, consumo de alimento, conversión alimenticia, % de mortalidad. grado de amarillamiento y enrojecimiento en la piel) correspondiente al i-ésimo cono sin adición de betaina (NT) y al j-ésimo nivel de zeajantina (SA) en la K-ésima repetición

U= Media general poblacional para ganancia de peso, consumo de alimento,

conversión alimenticia % de mortalidad y por amarillamiento y enrojecimiento de

la piel.

Nti = Efecto del i-ésimo con o sin adición de betaina.

Saj = Efecto de j-ésimo nivel de zeaxantina.

(NTxSA)ij = Efecto de la interacción del i-ésimo adición con o sin betaina y del j-

ésimo nivel de zeaxantina.

Eijk = Error experimental, asociado a cada una de las observaciones.

La hipótesis nula planteada (Ho) fue: La ganancia de peso, consumo de alimento,

conversión alimenticia, porcentaje de mortalidad, grado de amarillamiento y

enrojecimiento en la piel son diferentes con y sin la adición de betaina bajo dos

diferentes niveles de zeaxantina

Ho: $T^1 \neq T^2 \neq T^3 \neq T^4$

Ha: $T^1 = T^2 = T^3 = T^4$

RESULTADOS

Experimento 1. Los resultados promedios obtenidos en los 49 días de duración del experimento, así como, los análisis estadísticos se muestran en el Cuadro 2. Se puede observar que no existió diferencia estadística (P >0.05) en cuanto al peso corporal, conversión alimenticia y consumo de alimento con y sin adición de betaina, así como con los pigmentos bajos y altos en zeaxantina.

En el Cuadro 3, se muestran los resultados de los análisis de varianza y los datos obtenidos para la coloración (amarillamiento y enrojecimiento), en la piel de la pechuga de los pollos medidos con el colorimetro de reflectancia en el sistema CIELab. Se puede observar que existe diferencia estadística (P < 0.05) en cuanto al amarillamiento y el enrojecimiento de la piel de la pechuga; con la adición de betaina fue mayor (P < 0.05), también los tratamientos con pigmentos bajos en zeaxantina tuvieron un mayor amarillamiento.

En el Cuadro 4, se encuentran los datos promedios y los resultados del análisis de varianza para porcentaje de mortalidad, se puede observar que no existió diferencia estadística (P > 0.05) en la mortalidad con y sin la adición de betaina; así como, con pigmentos bajos y altos en zeaxantina.

Experimento 2.- Los resultados promedios obtenidos en los 49 días de duración del experimento; así como, los análisis estadísticos se muestran en el Cuadro 5.

Se puede observar que no existió diferencia estadística (p>0.05) en cuanto el peso corporal, conversión alimenticia y consumo de alimento con y sin la adición de betaina; así como con los que contenían pigmentos bajos y altos en zeaxantina.

En el Cuadro 6, se muestran los resultados de los análisis de varianza y los datos obtenidos para la coloración (amarillamiento y enrojecimiento), en la piel de la pechuga de los pollos medidos con el colorímetro de reflectancia en el sistema CIELab. Se puede observar que fue altamente significativo el efecto en amarillamiento a betaina y al tipo de pigmento (P < 0.000) siendo más altos con betaina con cualquier pigmento y color amarillo mejor para el bajo en zeaxantina. En cuanto en el enrojecimiento no se encontró diferencia (P < 0.05) a betaina ni a pigmentos bajos y altos en zeaxantina.

El Cuadro 7, presenta los datos promedios y los resultados del análisis de varianza para porcentajes de mortalidad general, se puede observar que no hubo efecto (P > 0.05) a la adición de betaina, así como tampoco a pigmentos bajos y altos en zeaxantina.

En el Cuadro 8, se encuentran los datos promedio y los resultados del análisis de varianza para los niveles de luteína sérica a los 49 días de edad, en donde se puede observar que no hubo un efecto significativo (P > 0.05) entre las dietas que

consumieron betaina. No a si para los bajos y altos en zeaxantina en donde si existió diferencia (P < 0.05) a favor de los pigmentos bajos en zeaxantina (altos en luteína).

En el Cuadro 9, están los datos promedio y los resultados de análisis de varianza para los gramos de grasa abdominal a los 49 días de edad, en donde se puede observar que hubo un efecto significativo (P < 0.05) al empleo de betaina, presentando un menor depósito de grasa en las canales.

En el Cuadro 10, se muestran los datos promedio y los resultados del análisis de varianza para el numero de ooquistes por gramo de heces de los 28 a los 49 días de edad, en donde se puede observar que no hubo efecto significativo (P > 0.05) entre las dietas que consumieron betaina, así como bajas y altas en zeaxatina con respecto al número de ellos a los 28 días, a la siguiente semana 35 días, se observa lo mismo a excepción que se nota un número menor de ooquistes en las dietas con betaina, pero no fue significativo este efecto (P > 0.05). A los 42 días de edad, las dietas que recibieron la betaina mostraron un menor número de ooquistes sin ser significativo el efecto (P > 0.05), y a los 49 días, se observa que las dietas que recibieron betaina, el número de ooquistes es menor significativamente (P > 0.05) mostrando una recuperación mayor en los tratamientos con betaina en el alimento.

DISCUSIÓN

Parámetros productivos.

En los Experimentos 1 y 2 los resultados de la ganancia de peso a los 49 días de edad en pollos de engorda no mostraron diferencia significativa (P>0.05) en los tratamientos con y sin betaina. Con lo que respecta a consumo de alimento y conversión alimenticia no se encontró diferencia significativa (P>0.05) en todos los tratamientos. En el porcentaje de mortalidad no hubo diferencia significativa (P<0.05) en todos los tratamientos.

Lo anterior concuerda con los resultados obtenidos por Matthews y cols. 60 quienes no encontraron diferencia (P<0.05) con la adición de betaina en tratamientos que fueron desafiados con *Eimeria acervulina*. En otro trabajo realizado por Emmert y cols. 61 encontraron estos mismos resultados. Sin embargo en trabajos hechos por Ruff 64, Fox y Southern 65, Turk y Stephens 66, Ruff y col. 67, Augustine y cols 63, encontraron que la betaina mostraba efectos significativos (P<0.05) en la conversión alimenticia, peso promedio final y mortalidad en los tratamientos adicionados con betaina. Esto se debe a que la betaina tiene propiedades osmoreguladoras y contrarresta alguno de los efectos negativos de la infección por coccidiosis, la betaina restablece el balance osmótico en el intestino que había sido desequilibrado por la coccidiosis y por sus

propiedades osmoprotectoras mejora la absorción de nutrientes y por lo tanto da mejores parámetros productivos y por ende baja el porcentaje de mortalidad. 68,69,70,71

En este trabajo no se encontró diferencia significativa en los parámetros productivos lo que concuerda lo encontrado con en varios estudios ^{60,61,62}. Cabe señalar que en los experimentos realizados no evaluaron el grado de pigmentación de la piel y encontraron que el coccidiostato que se utiliza juega un papel importante para que la betaina tenga o no efecto.

Pigmentación de la piel y niveles de luteína sérica.

Los datos promedio obtenidos en ambos experimentos, para el amarillamiento de la piel indicaron efecto (P< 0.05) a la adición de betaina, no a si para el enrojecimiento donde en el primer Experimento si hubo efecto en la betaina (P< 0.05), mientras que en el segundo Experimento no lo hubo. Cabe señalar que no existió diferencia (P> 0.05) en el enrojecimiento entre los tratamientos con pigmento bajo y alto en zeaxantina. En lo que respecta a los niveles de luteína sérica, hubo efecto al pigmento, siendo mayor para los bajos en zeaxantina (altos en luteína).

Este efecto observado en pigmentación se debe a que a la betaina tiene propiedades osmoreguladoras y contraresta algunos de los efectos negativos de la infección por coccidiosis y de los coccidiostatos que se incluyen en las dietas

para prevenir la enfermedad. Una serie de pruebas; ⁶⁴ ²⁷ ⁶⁵ ⁶⁶ ⁶³, han demostrado que las propiedades osmoprotectoras de la betaina reducen la gravedad de la infección por coccidiosis en pollos inoculados con una mezcla de *Eimeria sp.* La betaina restablece el balance osmótico en el intestino que había sido desequilibrado por la coccidiosis y por diarreas inespecificas que cambian la morfología del intestino, disminuyendo el tamaño de sus células y limitando las vellosidades intestinales del intestino reduciendo la absorción de nutrientes, entre ellos los carotenoides que pigmentan la piel del pollo.

Hay que recordar que existen diferentes tipos de coccidias y que cada una infecta un área diferente del tracto intestinal y produce diferentes síntomas^{4,72,73,74}; cabe mencionar que el sitio de principal de absorción de los pigmentos se lleva a cabo en el intestino delgado sobre todo en el asa duodenal y en la parte proximal del yeyuno. En el caso de los beta carotenos, la absorción se efectúa en la parte distal del intestino delgado, esta absorción se lleva a cabo mediante un mecanismo pasivo seguido de un gradiente de concentración en donde la luteína en forma libre es absorbida rápidamente y tiene que haber condiciones favorables para que la luteína se re-esterifique. Después de cruzar la barrera intestinal la luteína libre representa el 96% del total y el resto encontrándose en forma de monoester.^{75,76,77}

Los carotenoides presentes en el plasma no están esterificados y generalmente se concentran en la fracción de la lipoproteina de alta densidad que funciona como transportador de las xantofilas hacia los órganos blanco. Se ha encontrado una relación lineal entre la concentración de proteínas helicoidales y el contenido de carotenoides en las fracciones LAD, procedentes de aves sanas. La infección con *Eimeria acervulina* destruye esta relación lo que hace pensar que la infección altera de alguna manera la estructura de la poliproteína A-1 (principal componente de la proteína LAD) y que la betaina contra resta este balance iónico que sufren las células.

Con respecto a la fuente de pigmento bajo y alto en zeaxantina se encontró mejor pigmentación con los tratamientos bajos en zeaxantina; esto se debe a que durante el proceso de saponificación de las xantofilas de flor de cempasúchil, al someter estos carotenoides a la acción del hidróxido de sodio por un tiempo mayor a lo necesario para que se realice la saponificación, se transforma la luteína en zeaxantina, existiendo actualmente xantofilas de flor de cempasúchil con un contenido de zeaxantina de 30 a 60% disminuyendo la proporción de luteína en el rango de 50 a 60%, la transformación consiste en el cambio de posición de un doble enlace de la molécula. Sin embargo debido que la zeaxantina y la luteína posen dos carbonos asimétricos, estas moléculas presentan lo que se conoce como isomería óptica. La importancia de esto radica en que solamente el isómero RR se deposita cuantitativamente en la piel del

pollo, mientras que los isómeros RS y SS no, por lo tanto la actividad óptica de estas moléculas a nivel del pollo es nula. Durante el proceso de transformación de luteína a zeaxantina, hasta un 90% de la nueva zeaxantina consiste de isómeros RS y SS, por lo tanto la actividad pigmentante de los pigmentos altos en zeaxantina a nivel de piel en pollo es muy pobre esto explica lo encontrado en este trabajo. 3,19,20,79,80

Grasa de la canal

Los resultados del Experimento 2 en cuanto a la cantidad de grasa depositada en la canal mostraron un efecto reductor a la adición de betaina, este menor depósito de grasa en la canal, coincide, con los datos informados por Saunderson y Mackinlay en 1990 ⁵². Estos investigadores señalaron una reducción del grosor de la grasa abdominal en la canal en pollos con dietas suplementadas con betaina reportando (7.15% de grasa total en la canal contra el testigo que fue de 8.82%).

Sin embargo la adición de betaina no siempre dió resultados constantes, en ensayos hechos por estos investigadores. De esta forma se sabe que la betaina está involucrada con el metabolismo de lípidos, contribuyendo a la donación de grupos metilo y a la síntesis de carnitina vía S adenosil metionina; la carnitina juega un papel determinante en la transportación de ácidos grasos de cadenas largas a las mitocondrias, en forma de coezima de la carnitin-acetil-translocasa,

donde la energía es puesta a disposición en forma de ATP, favoreciendo en forma adicional los procesos de glucogénesis y cetogénesis; sin embargo, se necesita más experimentación para poder establecer que la betaina reduce el deposito de grasa en la canal del pollo de engorda. No obstante en cerdos hay diferentes trabajos en los cuales reportan que si existe un efecto estadísticamente significativo (P < 0.01) que reduce la grasa de la canal en el cerdo. ^{54,82,83,84,85}

COCCIDIOSIS.

En el Experimento 2, una semana después de la inoculación, 28 días de edad, el número de ooquistes en todos los tratamientos fue muy similar, no encontrándose diferencia significativa (P<0.05), sin embargo el número de ooquistes encontrado corresponden a un brote clínico, con enteritis grave y bajo consumo de alimento según la clasificación de Bernal. ⁸⁶

A los 35 días de edad el número de ooquistes se redujo en todo los tratamientos no encontrándose diferencia significativa (P<0.05), sin embargo los tratamientos con betaina presentaban una mejora de 8 y 12% respectivamente; según Bernal ⁸⁶ este conteo de ooquistes se considera como un riesgo inminente de brote clínico y baja en los parámetros productivos. A los 42 días de edad se apreció que los tratamientos con betaina tenían menor número de ooquistes y por lo tanto mejor recuperación de la coccidiosis aunque esta no fue significativa (P<0.05).

A la edad de 49 días de edad si existió diferencia significativa (P<0.05) en los tratamientos que recibieron betaina mostrando menor número de ooquistes y por tanto recuperación más rápida que en aquellos tratamientos que no recibieron betaina

En otros trabajos se ha estudiado la interacción de betaina y la infección por coccidiosis Augustin y Cols 1997 63, inocularon pollos con coccidia y los

alimentaron con dietas normales o adicionadas con salinomicina y 1500 ppm de betaina, con la adición de betaina mostraron porcentajes de lesiones más bajo y mejores resultados productivos así como menor menor mortalidad en comparación con dietas que tenían solo salinomicina.

En otro trabajo en el centro de investigación de Colorado E.E.U.U. ⁸⁷ se confirmó que la betaina era capaz de compensar los niveles bajos de metionina para los parámetros productivos sin presencia de coccidia y mostró que la betaina produce mejores resultados productivos que la metionina en presencia de coccidia, la inclusión de betaina en la dieta reduce el porcentaje de lesiones. Los autores concluyen que la betaina sustituye parte de la metionina, pero además, tiene un efecto indirecto en la infección por coccidiosis. Dos pruebas más llevadas a cabo en el centro de investigación de calidad de Colorado⁴⁶ investigaron la interacción entre la betaina y la coccidiosis en donde se midieron el porcentaje de lesiones en las que a los que se les dio betaina, colina o metionina, con o sin salinomicina y con fuerte o suave infección por coccidia. El porcentaje total de lesiones se redujo en todos los casos de aves alimentadas con betaina (los efectos de la colina y la metionina fueron inconsistentes). El mayor efecto positivo de la betaina fue en los casos más severos por coccidiosis. ^{88,89,80}

Sin embargo Matthews y cols. ⁶⁰ tuvieron mejor el peso, pero no se afectaba al oocisto de la coccidia o el porcentaje de lesiones, y no encontraron ninguna

interacción con el coccidiostato Narasina. Sin embargo, la adición de narasina solo mejoró la forma similar el crecimiento pero no redujo el porcentaje de lesiones o la pérdida de ooquiistes. Los autores concluyeron que la respuesta a la betaina, a la narasina, o la combinación de ambos, se debió, en términos del porcentaje de lesión, a una posible reinfección por Eimeria tenella combinación con una posible sensibilidad a la narasina. Parece; sin embargo, que para que haya un efecto interactivo significativo, en el porcentaje de lesiones, de la betaina y un coccidiostato ionóforo tiene que haber algún tipo de sensibilidad de la coccidia al medicamento usado.

El efecto protector que tiene la betaina depende de la naturaleza bipolar, la cual la hace importante para la osmoregulación, que es el control de agua en las células, provocando por el cambio de concentración de electrolitos en solución. En un brote de coccidiosis, los oocistos infectan las células del intestino, se duplican y hacen que estas pierdan su estructura. La infección cambia la morfología del intestino, reduciendo el tamaño de sus células y limitando las vellosidades intestinales. La coccidiosis cambia también la osmolaridad del intestino provocando diarrea, y por tanto reduce la absorción de nutrientes. Los coccidiotatos inóforos también disturban la regulación osmótica del organismo facilitando el transporte de los iones a través de las membranas biológicas, por lo que interfieren con el primer nivel de infección por coccidia. Aunque los coccidiostatos inóforos son muy efectivos en el control de la coccidiosis, también

afectan el equilibrio iónico en el intestino, y reducen el consumo y los parámetros productivos del pollo. Por lo tanto, los efectos osmo reguladores de la betaina son responsables de la interacción de la coccidiosis y los coccidiostatos, en pruebas donde se inoculó coccidia, con la administración de salinomicina o lasolacid aumentó la humedad de la cama, y la indicación de un desequilibrio iónico en el intestino causó diarrea. Cuando se añadió betaina a estas dietas, se redujo la humedad de cama, indicando que el equilibrio osmático había mejorado, aunque no retornó al nivel normal. 95-99,102-104

Tanto la infección por coccidiosis como los coccidiostatos usados para controlar la enfermedad disturban el equilibrio iónico en el intestino mientras que las funciones osmoreguladoras de la betaina ayudan a restablecer las condiciones normales del intestino. 100,101

CONCLUSIONES

De los resultados obtenidos, bajo las condiciones experimentales empleadas se puede inferir lo siguiente:

- 1.- La adición de betaina en la dieta de los pollos de engorda aumentó el amarillamiento y enrojecimineto de la piel (esto último resultó solo en el Experimento 1).
- 2.- El aumento de la pigmentación de la piel de la pechuga, se debió a una mejor absorción de luteína reflejado por mayores níveles de luteína sérica.
- 3.- La inclusión de betaina redujo el depósito de grasa en la canal
- 4.- La betaina ayudó a contrarestar algunos efectos negativos de la infección por coccidiosis y coccidiostatos.
- 5.- El uso de un pigmento alto en zeaxantina no mostró ningún beneficio, en comparación con un pigmento rico en luteína.

LITERATURA CITADA

- Cuca GM, Avila GE, Pro MA. Alimentación de las aves. 8ª ed Universidad Autónoma Chapingo Edo de México. 1996.
- 2. Sunde ML. Introduction to the symposium: The Scientific way to pigment poultry products. Poul Sci 1992; 71:709-710.
- Fernández S. Pigmentación en Avicultura . Diplomado en Producción Avícola Modulo III FMVZ-UNAM. 2000; 99-120.
- Vicente SJ. Aspectos básicos sobre la pigmentación en la industria avícola.
 Diplomado en Producción Avícola. Modulo II. FMVZ-UNAM. 2000; 94-98.
- Voeten AC, Braunis WW. Subclinical coccidiosis in broilers a comparative investigation of detection methods. Arch. Geflügelk. 1981; 45:189-193.
- Mattews JO, Ward TL, Southern L. Interactive effects of betaine and monensin in uninfected and *Eimeria acervulina* infected chicks. Poul Sci. 1997; 76:1014-1019.
- 7. Alan A. Woodall, B. Britton G. Jackson M. Dietary supplementation with carotenoids effects on alfa-tocopherol levels and susceptibility of tissues to oxidative stress. British Journal of Nutrition 1996; 76: 306-31⁷
- 8. Goodwin TW. Biochemistry of the carotenoids, vol 1; plants 2nd. de. Chapman and Hall, N.Y., USA, p 1980; 1-95.
- Lichtennaler HK. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembrane. Methods in Enzymology 1987; 148: 350-352 USA.

- 10. Gordon HT, Bauernfeind JC. Carotenoids as food colorants critical. (Reviews) in food Science and Nutrition 1982; 18;59-87.
- 11. Goodwin TW, Britton G. Distribution and analysis of carotenoids in side , Academic Press, London 1988; 62-72.
- 12. Klavi H, Bavernfeind JC. Carotenoids as food colors in Carotenoids as colorant and vitamin A precursor. Academic Press, N.Y. USA 1981; 47-72.
- 13. Schaeffer LL, Tyczkowski JK, Parkhurst C. Hamilton PB. Carotenoids composition. Poul Sci 1988; 67: 608-614.
- 14. Britton G. Structure and properties of carotenoids in relation to function, Feseb Journal 1995; 9:1551-1558.
- 15. Bendich A. Biological function of dietary carotenoids. In Carotenoids in Human Health. Academic Press. New York USA 1981; 74 82
- 16. Canfield NI, Krinsky. Carotenoids as colorants and vitamin A precursors.

 Annals of the New York Academy of Science, Vol. 691 p USA. 1993; 61-67
- 17. Cippitelli M, Ye, J Viggiano, V. Sica, A. Ghosh, P. Gulino, A. Young HA. Retinoic acid-induced transcription modulation of the human interferon promoter. The journal of Biological Chemistry 1996; 271(43); 2678-2679.
- 18. Middendorf DF, Childs GR, Cravens WW. A rapid bioassay for the comparison of xanthopyll availability from various sources. Poul Sci. 1980; 59·1442-1454.
- 19. Hencken H. Chemical and physiological behavior of feed carotenoids and their effects on pigmentation. Poul Sci 1992; 71:711-717.

- 20. Fletcher DL. Methodology for achieving pigment specifications. Poul Sci. 1992; 71: 733-743.
- 21. Fletcher DL, Janky DM, Voitle RA, Harms RH. The influence of light on broiler pigmentation. Poul Sci. 1977; 56: 953-956.
- 22. Fletcher DL, Papa CM, Tirado FX. The effect of saponification on the broiler coloring capability of marigold extracts. Poul Sci 1986; 65: 1708-1714.
- 23. Fletcher DL, Halloran HR. Egg yolk pigmentation properties of a marigold extracts in practical type diet. Poul Sci. 1983; 60:1205-1210.
- 24. Tyczkowski JK, Hamilton PB. Lutein as model dihidroxycarotenoids for the study of pigmentation in chicken. Poul Sci 1988; 65: 1141-1145.
- 25. Tyczkowski JK, Schaeffer JL, Parknurst C, Hamilton PB. Oxolutein a metabolite of lutein in chicken. Poul Sci. 1986; 65: 2135-2141.
- 26. Fletcher DL, Halloran HR. An evaluation of a commercial available marigold concentrate and paprika oleoresin on egg yolk pigmentation. Poul Sci. 1981; 60:1846-1853.
- 27. Tyczkowski JK, Hamilton PB. Absorption, transport and deposition in chickens of lutein diester, a carotenoid extracted from marigold (*Tangentes erecta*). petals. Poul Sci 1986; 67:787-793.
- 28. Tyczkowski JK, Yagen B, Hamilton PB. Metabolism of cantaxanthin-red diketocarotenoid by chickens. Poul Sci 1988; 67:787-793.

- 29. McDougald LR, Mathis GF, Conway DP. Effect of semduramicin, salinomycin, and monensin on performance, shank pigmentation, and coccidial lesion in broiler chicken in floor pens. Avian Dis. 1996; 40:68-71.
- 30. Allen PC, Danforth HD, Morris VC, Levander OA. Association of lowered plasma carotenoids with protection against cecal coccidiosis by diets high in n₃ fatty acids. Poul Sci 1996; 75: 966-972.
- 31. Braunius WW. Incidence of Eimeria species in broilers in relation to the use of anticoccidial drugs. Zootecnia International January. 1988; 51-53
- 32. Hamet N, Josse J, Robin B, Toucas L. An epidemiological investigation into coccidiosis and drugs resistance in broiler chickens. World's Poul Sci. 1985; 7: 210-224.
- 33. Long PL, Rowell JG. Sampling broiler house litter for coccidual oocysts. Br. Poul Sci 1975; 16:583-592.
- 34. Idris AB, Bounous DI, Goodwin MA, Brown J, Krushinskie A. Lack of correlation between microscopic lesion scores and gross lesion scores in commercially grown broilers examined for small intestinal *Eimeria spp.* coccidiosis. Avian Dis. 1997; 41:388-391.
- 35. Emmert JL, Garrow TA, Baker DH. Hepatic betain homocysteine methyltransferase activity in the chicken is influenced by dietary intake of sulfur amino acids, choline and betaine. American Institute of nutrition. may 1996; 2050-2058.

- 36. Kidd MT, Ferket PR, Garlich JD. Nutritional and osmoregulatory functions of betaine World's Poultry Science Journal. 1997; 53:125-139.
- 37. Middendorf DF, Cravens WW. A rapid biossay for the comparison of xantophyll availability from various sources. Poul Sci. 1980; 59:1442-1450.
- 38. Augustine PC, McNaughton JL. Effect of betaine on invasion and development of the avian coccidia and growth performance in coccidian-infected chicks.

 Proc. Maryland Nutrition Conference 1996; 31-36.
- 39. Hegsted, DM Milles, RC, Elvehjiem CA. and Hart, E.B. Choline in the nutrition of chicks. Journal of Biological Chemistry 1941; 138: 459- 466.
- 40. Lowry KR, Izquierdo, QA, Baker DH. Efficacy of betaine relative to choline as a methyl donor. Poul Sci. 55 (supplement 1): 1987; 135.
- 41. McGeachin RB, Bailey CA. Determination of carotenoid pigments, retinol and alfa -tocoferol in feeds, tissues, and blood serum by normal phase high performance liquid chromatography. Poul Sci. 1995; 74: 407-411.
- 42. Almquist HJ, Grau CR. Interrelationship of methionine choline, betaine and arsenocholine in the chick, Journal of nutrition 1994; 27:263:269.
- 43. Mack S, Mann H. Metionina, colina y betaina como actúan y como interactuan en el metabolismo animal. Boletin Técnico Degussa No. 1 junio de 1995; 1-6
- 44. Allen PC, Danforth HD, Morris TP. Growth performance, carcass composition, and pigmentation of broilers feed supplemental nickel. Poul Sci 1995; 74:976-982.

- 45. Chadwick A, Rapson EB, Carlos GM, Lee DL. Circulating prolactin concentration in chickens infected with *Eimeria tenella*. British Poul Sci 1985; 26:17-23.
- 46. Chapman HD. Strategies for the control of coccidiosis in chickens. World's Poul Sci Journal 1988; 44:187-192.
- 47. Gwyther MJ, Britton WM. The influence of coccidial infection and ionophore treatment on tissue cation and anions in broiler chicks. Proceedings of the 5th International coccidiosis conference, tours, France 1989; 17-20 October INRA services publications 229-234.
- 48. Handler JS, Kwon HM. Regulation of renal cell organic osmolyte transport by tonicity. American Journal of Physiology 265 (cell physiology) 1993; 34: 1449-1455
- 49. Petronini G, DeAngelis EM, Borghetti P, Burgnetti AF, Wheeler KP. Modulation by betaine of cellular responses to osmotic stress. Biochem. J. 1972; 282:69-73
- 50. Virtanen E. Piecing together the betaine puzzle. Feed Mix. 1995; 3, 12-17
- 51. Schutte JB, DeJong A, Pack J. Replacement value of betaine for methonine in broiler chicks. 1995 10th European Poultry Symposium 84-91
- 52. Saunderson LC, Mackinlay J. Changes in body-weight, composition and hepatic enzymes activities in response to dietary methionine, betaine and choline levels in growing chicks. British Journal of Nutrition 1990; 63 339-349

- 53. Chamberts ST, Kunin, CM. The osmoprotective properties of urine for bacteria: The protective effect of betaine and human urine again low pH and high concentration of electrolytes, sugar and urea. Journal of Infection Diseases 1985; 152: 1308-1316.
- 54. Coffey MT, Shireman RB, Herman DL, Jones EE. Carnitine status and lipid utilization in neonatal piglets feed diet low in carnitine J. Nutrition 1999; 121: 1047 25-29.
- 55. National Research Council. Nutrient Requirements of poultry 9th rev de.

 National Academy of Sciences, Washington, D.C. 1994.
- 56. Gill G L. Design and analysis of experiments in the animal and medical sciences. Vol. . Iowa: The Iowa State University Press, 1978.
- 57. See1 RGD, Torrie HJ. Principles and procedures of statistics. A biometrical approach. 2nd ed. Singapore: Mcgraw-Hill, 1981.
- 58. Anónimo; Betaine therapy for homocystinuria. Nutrition Reviews 1984; 42.5.
- 59. Juárez, EMA. Determinación de interferón gamma durante la infección experimental con *Eimeria tenella* en pollo de engorda (Tesis de Maestría) México, D. F., México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia UNAM, 1998.
- 60. Matthews, JO, Ward, TL Southern, LL. Interactive effects of betaine and monensin in uninfected and *Eimeria acervulina* infected chicks. Poul Sci 1997, 76:1014-1019.

- 61. Emmert JL, Garrow TA, Baker DH. Hepatic betaine-homocysteine methyltransferase activity in the chicken is influenced by dietary intake of sulfur amino acids, choline and bataine. J Nu 1996; 126; 2050-2058.
- 62. Finkelstein JD, Martin JJ, Harris, BJ Kiyle, WE. Regulation of hepatic betainehomocysteine methyltrasnferase by dietary betaine. J Nu 1983; 113;519-521.
- 63. Augustin PC, JL McNaughton, E Virtanen and Rosi, L. Effect of betaine on the growth performance of chicks inoculated with mixed cultures of avian *Eimeria* species and on invasion and development of *Eimeria tenella* and *Eimeria acervulina* in vitro and in vivo. Poul Sci 1997; 76: 802-809.
- 64. Ruff MD. Reasons for inadequate nutrient utilization during avian coccidiosis. a review proceedings of the Georgia Coccidiosis Conference 1985; 169-185.
- 65. Fox MC, LL. Southern, Effect of ammonium chloride ingestion on *Eimeria* acervulina-infected chicks red excess copper. Poultry Sci. 1987; 66: 1019-1022.
- 66. Turk, DE Stephens, JF. Effects of serial inoculations whit *Eimeria acervulina or Eimeria necatrix* upon zinc and oleic acid absorption in chicks. Poul Sci 1970; 49: 523-526
- 67. Ruff, MD Witlock, DR, Smith RR. Eimeria acervulina and Eimeria tenella: Effect on metionine absorption by the avian intestine Exp. Parasito. 1976; 39: 244 251.

- 68. Virtanen, E Remus, J Rosi L, McNaughton c Augustine P. The effect of betaine and salinomycin during coccidiosis in broilers. Poul Sci 1996; (suppl) 149 abstract.
- 69. Zimmerman, NG Twining, P Dennis, H. Betaine as a methionine substitute and coccidial determination in broiler. Poul Sci 1996; 75 (suppl 1): 154 (abstract).
- 70. Garlich JD. Betaine in poultry Nutrition. 22hd Annual Carolina Poultry Nutrition Conference, 1995; December: 1-5.
- 71. Molitoris, BA Baker, DH. The choline requirement of broiler chicks the seventh week of life. Poul Sci 1976; 55: 220-224.
- 72. Virtanen, E Rumsey, G. Betaine suplementation can optimize use of methionine, choline in diet. Feedstuffs 1996, october 12-15.
- 73. Virtanen E, McNaughton, J Rosi, L Hall. Effects of betaine suplementation on intestinal lesions, mortality and performance of coccidia challenged broilers chicks. 9th European Symposium on Poultry Nutrition, Poland 1995; 433-436.
- 74. Heath JL, Thomas OP, The effect of scalding conditions on the xanthophyll content and color of broiler skin. Poul Sci 1974; 53. 1880-1885
- 75. Harms, RH Fry, TL, McPherson, BN. Evidence of differences in pigmentation among strain and crosses of broilers. Poul Sci 1977; 56:86-90
- 76. Latscha T, Carotenoids in animal nutrition. Hoffman F La Roche Itd Animal Nutrition and Health 1990 Switzerland 1990; 37-49.
- 77. Leeson S, Summers, JD. Commercial Poultry Nutrition. 2nd edition. University Books 1997; Guelph Ontario Canada.

- 78. Britton G. Carotenoids. Methods in plant biochemistry. 1991; 7:473-518.
- 79. Goodwin TW, Britton G. Distribution and analysis of carotenoids. En: Plant Pigments. Academic Press USA 1981.
- 80. Goodwin TW. The Biochemistry of the Carotenoids, volume 2, Animals. 2nd ed. Chapman and hall, de. Academic Press, London. 1988; 62-132.
- 81. Lehninger AL. Bioquímica 9na reimpresión ediciones Omega S.A. Barcelona España 1985.
- 82. Odle J. Betaine and carnitine. Feed managament 1996; 47:1 25-27.
- 83. Carter HE, Bhattacharyya, PK Weidman, KR Fraenkel, G. Chemical studies on vitamin B isolations and characterization as carnitine. Arch Biochem Biophys 1972; 38: 405
- 84. Smith, JW Owen, JL Nelssen, RD Goodband, MD Tokach, KG Friesen, TL Lohrman, L Blum, SA. The effects of dietary carnitine, betaine, and chromium nicotinate suplementation on growth and characteristics in growing-finishing pig. J. Animal Science 1994; 72 (supplement 1): 274 68-83.
- 85. Zabrass, BKI Mottram. Betaine lowers P2 backfat and helps rate of gain. Pork Journal 1996; september 39-43.
- 86. Bernal, M, J. El conteo de oocistos en heces como recurso en la evaluación de programas anticoccidianos, Boletín Técnico Pfizer 1995; 1,1-5
- 87. Silversides FC, Newcombe M, Remus J. Betaina, coccidiosis y coccidiostatos en avicultura. Boletin Finfeeds 1995; 64 73.

- 88. Long, PI, Millad, BJ, Joyrer, LP. A guide to laboratory techniques used in the study and diagnosis of avian coccidiosis. Folia Veterinaria Latina 1976; VI: 201-217.
- 89. Nash, D Pelang, LG Wiskich, JT. The effect of proline, betaine and some other solutes on the heat stability of mitochondrial enzimes. Aust J Plant Phisiol. 1982; 9; 45-47
- 90. Yancey, H Clark ME, Hand SC Bowlus, RD Somero, GN. Living with water stress evolution of osmolyte systems. Science 1982; 217; 1214 –1222
- 91. Jang G. Edgars SA. Efect of coccidiosis in broilers on digestion of nutrients Highlights of Agricultural Research Alabama, Agricultural experiment station. 1981; vol 28 6-10.
- 92. Allen PC. Physiological responses of chicken gut tissue to coccidial infection:

 Comparative effects of *Eimeria acervulina* and *Eimeria mitis* on mucosal mass,
 carotenoid content, and brush border enzyme activity. Poul Sci 1987; 66 13061315.
- 93. Boch, J Kempf, B Bremer, E. Osmoregulation in bacillus subtilis: synthesis of the osmoprotectan glycine betaine from exogenously provided choline. J Bacteriology 1994; 176: 5364-5371.
- 94. Conway, DP Sasai, K Gaafor, SM Smotherrs, CD. Effects of different levels of oocyst inocula of *Eimeria acervulina, E. tenella* and E. *maxima* on plasma constituents, packed. Avian Dis. 1993; 37:118-123

- 95. Turk DE. Coccidial infections and iron absorption. Poultry Sci. 1981; 60: 323 326.
- 96. Allen, PC. physiological responses of chicken gut tissue to coccidial infection. Poultry Sci. 1987; 66: 1306-1315
- 97. Boch, JB, Kempf, E Bremer I. Osmoregulation in *Bacillus subtillis*: J. Bacteriology. 1994; 176: 5364-5371.
- 98. Virtanen, E Remus, J McNaugton, J. Analyzed values for betaine in feedstuffs.

 Eastern nutrition conference organizing committee. Maryland Nutr. Conf.

 College Park USA. 1996; 84 91.
- 99. Elliot MA. Can betaine replace DL- methionine in poultry diets Degussa corporation 1994; 11-22.
- 100. Wills, GM Baker, DH. Eimeria acervulina infection in the chicken: A model system for estimating nutrient requirements during coccidiosis. Poul Sci 1981; 60:1884-1891.
- 101. Allen, PC Effect of coccidiosis on the distribution of dietary lutein in the chick. Poul Sci 1992; 71:1457-1463.
- 102. Weber, S. Determinations of xanthophylls lutein and zeaxanthin in complete feeds and xanthophylls blends with HPLC, in analytical methods for vitamins and carotenoids in feed. Roche publication 1988; 2101: 83-85
- 103. Schutte, JB DeJong, J Smink, W Pack M. Replacement value of DL methionine in male broiler chicks. Poul Sci 1997; 76: 321-325.

104. Pesti GM, Harper AE, Sunde ML. Choline methionine nutrition of starting broiler chicks, three models for estimating the choline requirement with economic considerations. Poul Sci 1980; 1073-1081.

Cuadro 1

Composición de las dietas experimentales basales empleadas en los experimentos en la fase de iniciación y finalización.

Ingredientes kg/ton	Iniciación	Finalización
Sorgo	514.200	563.760
Pasta de soya	397.750	342 040
Carbonato de calcio	17.220	15.730
Fosfato de calcio	17.140	15.160
Aceite vegetal	41.710	46.800
Premezcla de minerales*	1.000	1.000
Premezcla de Vitaminas*	2.500	2.500
DL-Metionina	2.230	1 760
L-Lisina H C I	0.450	0 000
Cloruro de colina 60 %	0.800	0.500
Sal	3.500	3.500
Betaina	Según	Según
	tratamiento	tratamiento
Anticoccidiano	0.500	0.500
Antioxidante	0.500	0.500
Funguicida	0.500	0.500
Pigmento bajo en zeaxantina		Según tratamiento
Pigmento alto en zeaxantina		Según tratamiento
	Análisis Calculado:	
Proteína%	22.00	20.00
Lisina%	1.20	1.02
Metionina%	0.55	0.48
Met + Cistina%	0.90	0.80
Calcio%	1.00	0.90
Fósforo disponible%	0.50	0.45
EM kcal/kg	2950	3050

^{*}Vitamina A (12,000,000 UI), vitamina D_3 (2,500,000 UIP), vitamina E (15,000 UI), vitamina K (2 g), vitamina B_1 (2.25g), vitamina B_2 (7.5g), vitamina B_6 (3.5g), vitamina B_{12} (20 mg), ácido fólico (1.5 g), biotina (125 mg), ácido pantoténico (12.5 g), niacina (45 g), hierro (50 g), zinc (50 g), manganeso (110 g), cobre (12 g), yodo (0.30 g), selenio (200 mg), cobalto (0.20 g). Cantidades adicionadas por tonelada de alimento.

Cuadro 2

Resultados de parámetros productivos en 49 días de edad en pollos de engorda con y sin el uso de betaina y xantofilas bajas y altas en zeaxantina (Experimento 1).

Tratamientos	Ganancia de peso g	Consumo de alimento	Conversión alimenticia
Con betaina y baja en zeaxantina	2446	5087ª	2.080 ^a
Sin betaina y baja en zeaxantina	2421	5038 ^a	2.081
Con betaina y alta en zeaxantina	2454	5217ª	2.126 ²
Sin betaina y alta en zeaxantina	2412	4908°	2.035
Fuente de variación		Probabilidad	
Betaina	0.059	0.824	0.705
Fuente de pigmento	0.914	0.823	0.923
Betaina x fuente de pigmento	0.317	0.125	0.271

Cuadro 3

Coloración de la piel de la pechuga a los 49 días de edad en pollos procesados, con y sin el uso de betaina y xantofilas bajas y altas en zeaxantina (Experimento 1).

Tratamientos	Amarillamiento A	Enrojecimiento B	
Con betaina y baja en zeaxantina	41.4	5.4ª	
Sin betaina y baja en zeaxantina	27.4 ^b	3.7°	
Con betaina y alta en zeaxantina	36.3	5.2ª	
Sin betaina y alta en zeaxantina	32.4 ^b	3.8 ^b	
Fuente de variación	Proba	bilidad	
Betaina	0.000	0.000	
Fuente de pigmento	0.000	0.003	
Betaina x fuente de pigmento	0.659	0.991	

Cuadro 4

Porcentaje de mortalidad a los 49 días de edad, con y sin el uso de betaina y xantofilas bajas y altas en zeaxantina. (Experimento 1).

Tratamientos	Mortalidad %
Con betaina y baja en zeaxantina	4.8
Sin betaina y baja en zeaxantina	6.3
Con betaina y alta en zeaxantina	7.15
Sin betaina y alta en zeaxantina	5.12 ^a
	Probabilidad
Betaina	0.344
Fuente de pigmento	0.110
Betaina x fuente de pigmento	0.215

Valores con literales Iguales, son iguales ($P \ge 0.05$)

Cuadro 5

Resultados de parámetros productivos en 49 días de edad en pollos de engorda con y sin el uso de betaina y xantofilas bajas y altas en zeaxantina (Experimento 2).

Tratamientos	Ganancia de peso g	Consumo de alimento g	Conversión alimenticia
Con betaina y baja en zeaxantina	2470 ^a	4473	1811ª
Sin betaina y baja en zeaxantina	2436ª	4379	1798ª
Con betaina y alta en zeaxantina	2463ª	4448	1806ª
Sın betaina y alta en zeaxantina	2455ª	4426	1803ª
Fuente de variación		Probabilidad	
Betaina	0.085	0.067	0.856
Fuente de pigmento	0.916	0.617	0.960
Betaina x fuente de pigmento	0.215	0.150	0.371

Cuadro 6

Coloración de la piel de la pechuga a los 49 días de edad en pollos procesados, con y sin el uso de betaina y xantofilas bajas y altas en zeaxantina (Experimento 2).

Tratamiento	Amarillamiento	Enrojecimiento	
	<u>b</u>	a	
Con betaina y baja en zeaxantina	42.7ª	6.5 ^a	
Sin betaina y baja en zeaxantina	38.9 ^b	5.9 ^a	
Con betaina y alta en zeaxantina	41.7ª	6.3ª	
Sin betaina y alta en zeaxantina	40.0 ^b	5.6ª	
Fuente de variación	Probabilidad		
Betaina	0.000	0.180	
Fuente de pigmento	0.30	0.526	
Betaina x fuente de pigmento	0.533	0.843	

Cuadro 7

Porcentaje de mortalidad a los 49 días de edad, con y sin el uso de betaina y xantofilas bajas y altas en zeaxantina. (Experimento 2).

Tratamientos	Mortalidad %
Con betaina y baja en zeaxantina	4.04
Sin betaina y baja en zeaxantina	3.03
Con betaina y alta en zeaxantina	3.01
Sin betaina y alta en zeaxantina	4.06
Fuente de variación	Probabilidad
Betaina	0.355
Fuente de pigmento	0.120
Betaina x fuente de pigmento	0.235
	175

Cuadro 8

Nivel de luteina sérica a los 49 días de edad en pollos de engorda con y sin el uso de betaina y xantofilas bajas y altas en zeaxantina. (Experimento 2).

Tratamiento	Luteína sérica μg/ml
Con betaina y baja	62.15 ^a
en zeaxantina	
Sin betaina y baja en	62.8 ^a
zeaxantina	
Con betaina y alta	26.94 ^a
en zeaxantina	
Sin betaina y alta en	26.04 ^a
zeaxantına	
Fuente de	Probabilidad
Variación	
Betaina	0.000
Fuente de pigmento	0.979
Betaina x fuente de	0.877
pigmento	

Cuadro 9

Grasa abdominal a 49 días de edad en canales pollo de engorda con y sin el uso de betaina y xantofilas bajas y altas en zeaxantina. (Experimento 2).

Tratamientos	Gramos de grasa abdominal
Con betaina y baja	2.3°
en zeaxantina	
Sin betaina y baja en	3.2 ^b
zeaxantina	
Con betaina y alta	2.6
en zeaxantina	
Sin betaina y alta en	2.9 ^b
zeaxantina	
Fuente de	Probabilidad
Variación	
Betaina	0.001
Fuente de pigmento	0.103
Betaina X fuente de	0.228
pigmento	

Cuadro 10

Numero de ooquistes de Eimeria acervulina por gramo de muestra de 28 a 49 días de edad. (Experimento 2).

Tratamientos	Número de ooquistes en miles por gramo de heces (edad en días)			
	28	`35	42	49
Con betaina y baja en zeaxantina	8164ª	372.3ª	19.5ª	2.5 ^a
Sin betaina y baja en zeaxantina	1050°	406.3ª	37.0ª	19.3 ^b
Con betaina y alta en zeaxantina	803ª	306.3ª	23.2ª	30.0ª
Sin betaina y alta en zeaxantina	1062ª	372.3ª	33.2ª	22.3 ^b
Fuente de variación	Probabilidad	Probabilidad	Probabilidad	Probabilidad
Betaina	0.572	0.572	0.000	0.000
Fuente de pigmento	0.620	0.124	0.245	0.681
Betaina x fuente de pigmento	0.673	0.623	0.832	0.764

Figura 1
Estructura química del ácido apocarotenoico, luteína y zeaxantina

ACIDO APOCAROTENOICO

LUTEINA