



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

MAESTRIA EN CIENCIAS DE LA PRODUCCIÓN Y DE LA SALUD ANIMAL

Efecto de la adición de L-Glutamina + L-Ácido Glutámico, en dietas de pollo de engorda sobre la inmunidad, integridad intestinal y comportamiento productivo.

TESIS

PARA OPTAR EL GRADO ACADEMICO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS

PRESENTA:

JORGE MIGUEL IRIARTE

TUTOR

MSc. ERNESTO ÁVILA GONZÁLEZ

FMVZ-UNAM

COMITÉ TUTORAL

Dra. GABRIELA GUADALUPE GÓMEZ VERDUZCO

FMVZ-UNAM

Dr. JUAN CARLOS DEL RÍO GARCÍA

FES-CUAUTITLAN-UNAM

MÉXICO, D.F.

AGOSTO 2014



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis 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.

DEDICATORIAS

Primero que nada, quiero agradecer a Dios por permitirme cumplir una meta más en mi vida, por rodearme de gente maravillosa que me impulsa día a día a seguir adelante y hacen que pueda superar los obstáculos y disfrutar de los éxitos, gracias a su amor y cariño.

A mi madre Lucía Guadalupe Iriarte Meza y a mi abuelita Honoria Meza, quien a lo largo de los años no han dejado de apoyarme y demostrarme lo mucho que me aman. Son y serán siempre un ejemplo y mi mayor motivación para seguir adelante, gracias a ustedes soy quien soy. Mis logros son suyos. Las AMO infinitamente.

A la mujer que ha cambiado mi vida, que está conmigo en las buenas y sobre todo en las malas, quien ha mostrado a lo largo de estos más de 5 años ser un gran apoyo, por ser una excelente mujer, una gran compañera. TE AMO Alma Selene Vázquez Delgado. Este triunfo también es tuyo.

A mis hermanos, que se que siempre están y estarán conmigo. Gracias Bernardo y Julio Cesar, los quiero.

A los Doctores Elizabeth Posadas Hernández y Ezequiel Sánchez Ramírez, por su infinito apoyo, aliento, ayuda y consejos, pero sobre todo por su amistad. Gracias.

A Carlos Gutiérrez Olvera y familia, por que se que siempre puedo contar con ustedes.

A esas personas especiales que ya no están físicamente, pero que marcaron mi destino.

A todas las personas que forman parte de mi vida, como son mi familia y amigos. Para no omitir algún nombre, lo dejare de manera general, pero no por eso es menos importante. Gracias por su apoyo a todos. Ustedes saben quiénes son.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional Autónoma de México por permitirme seguir siendo parte de su gran historia.

A la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, de la cual es un orgullo pertenecer.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, por la oportunidad y el apoyo brindado para poder finalizar con éxito la maestría.

Al Centro de Enseñanza, Investigación y Extensión en Producción Avícola, que me ha formado personal y profesionalmente, de lo cual, me siento muy orgulloso de poder pertenecer a él.

Al Dr. Ernesto Ávila González, por todo el apoyo brindado a lo largo de estos casi 7 años de conocerlo, por ser un gran maestro, por ser mi tutor, pero sobre todo, por ser un excelente ser humano y del cual es un orgullo, poder tener la oportunidad de trabajar a su lado. Gracias.

A la Dra. Gabriela Gómez Verduzco y al Dr. Juan Carlos del Rio, por formar mi comité tutorial, del cual me siento muy afortunado de haberlos tenido, ya que ambos son unos excelentes doctores, pero sobre todo grandes personas y siempre aportaron algo en mi, con sus consejos y observaciones para poder llevar a buen fin este trabajo.

A los miembros del jurado, los Doctores: Irma Tejada, Silvia Carrillo, Antonio Díaz y Sergio Gómez, por el tiempo dedicado y disposición para la revisión de este trabajo. Por las observaciones y aportaciones para poder terminar de mejor manera la tesis.

A la Dra. María del Pilar Castañeda, por el apoyo y consideraciones mostradas antes, durante y después de la realización de la maestría.

Al Dr. Arturo Cortes, por la ayuda mostrada siempre, el resolver las dudas para mejorar el trabajo, además de con sus ocurrencias, hacer más ligeras las cosas.

A los doctores que participaron en mi formación en la Maestría, de los cuales aprendí mucho de cada uno de ellos y me siento orgulloso de haber sido su alumno. Ellos son: Dra. Adriana Ducoing Watty, Dr. Antonio Díaz Cruz, Dr. Carlos López Coello, Dr. Ernesto Ávila González y Dr. José Antonio Quintana.

Al Dr. Aarón López, por facilitarme información valiosa y consejos para la realización del trabajo.

Al Dr. Manuel Órnelas por el apoyo brindado siempre.

A Sarahí Ramírez, por la ayuda brindada a lo largo de la maestría.

A todas las personas que me ayudaron a la realización de los dos experimentos: Académicos alumnos de servicio social, y personal administrativo del CEIEPAV. Que sin su gran y valiosa ayuda, no hubiera sido posible llevar a buen término este trabajo.

RESUMEN

Con el objeto de evaluar la adición de L-Glutamina +L-Ácido Glutámico (AminoGut®) en dietas para pollos de engorda sobre el comportamiento productivo, integridad intestinal e inmunidad, se realizaron dos experimentos, en ambos se utilizaron pollos de la estirpe Ross 308 de 1 día de edad. En el Experimento 1, se utilizaron 300 pollos, las cuales se distribuyeron conforme a un diseño completamente al azar en 5 tratamientos con 3 repeticiones de 20 pollos cada uno. En el Experimento 2, se utilizaron 800 pollos, las cuales se distribuyeron conforme a un diseño completamente al azar en 5 tratamientos con 5 repeticiones de 32 pollos cada uno. Los tratamientos utilizados en ambas investigaciones fueron los siguientes: T1.- Dieta testigo sorgo + pasta de soya, T2.- Como 1 + 700 ppm de la mezcla de glutamina + ácido glutámico/ ton, T3.- Como 1 + 1400 ppm de la mezcla de glutamina + ácido glutámico/ ton, T4.- Como 1 + 2100 ppm de la mezcla de glutamina + ácido glutámico/ ton, T5.- Como 1 + 2800 ppm de la mezcla de glutamina + ácido glutámico/ ton. Adicionado las primeras 3 semanas de edad (21 días). A partir del día 22, todas las aves recibieron dietas sorgo- pasta de soya hasta el día 49. Los resultados que se obtuvieron en el Experimento 1 a los 49 días, arrojaron que existió efecto significativo ($P<0.05$) en ganancia de peso, índice de conversión y peso de la canal, a la adición de 700 ppm de la mezcla de Glutamina + Ácido Glutámico. En el Experimento 2 se evaluó además, el efecto de la Glutamina + Ácido Glutámico, sobre la inmunidad, la integridad intestinal y el comportamiento productivo de las aves a los 49 días de edad. Los resultados promedio obtenidos a los 21 días de edad para ganancia de peso y a los 49 días de edad para peso de la canal, uniformidad de la parvada, altura de las vellosidades intestinales, inhibición de la hemaglutinación, hipersensibilidad tardía y la determinación de las inmunoglobulinas IgA, mostraron efecto significativo ($P<0.05$) a la adición de 700 ppm de glutamina+ Ácido Glutámico. La medición de las vellosidades intestinales a los 35 días de edad, mostró un mayor crecimiento con 700 ppm del producto ($P<0.01$). En consumo de alimento e índice de conversión, ganancia de peso, rendimiento de la canal, rendimiento de pierna con muslo, pechuga, pigmentación amarilla de la piel y en la prueba de la hemaglutinación a los 14 días, no se encontró diferencia significativa ($P>0.05$) entre tratamientos. De los resultados obtenidos bajo las condiciones experimentales empleadas en los dos experimentos, se puede concluir que la adición de Glutamina + ácido Glutámico 700 ppm en dietas de pollo de engorda, tiene un efecto positivo en los parámetros productivos, longitud de las vellosidades y respuesta inmune.

Palabras claves: Glutamina, Ácido Glutámico, parámetros productivos, vellosidades intestinales, respuesta inmune.

ABSTRACT

In order to evaluate the addition of L-Glutamine + L-Glutamic Acid (AminoGut[®]) in broiler diets on growth performance, gut integrity and immunity, two experiments were conducted with Ross broilers 308 1 day old. In Experiment 1, 300 chicks were distributed according to a completely randomized design with 5 treatments in 3 replicates of 20 chicks each were used. In Experiment 2, 800 chickens were distributed according to a completely randomized design in 5 treatments with 5 replicates of 32 chicks each one used. Treatments used in both investigations were: T1 - Diet with sorghum + soybean meal, T2 - As 1 + 700 ppm mix glutamine + glutamic / ton acid, T3 - 1 + As of 1400 ppm. glutamine + glutamic acid mixture / t acid, T4 -. As 1 + 2100 ppm of the mixture of glutamine + glutamic / t acid, T5 -. As 1 + 2800 ppm of the mixture of glutamine + glutamic / t acid. Added the first 3 weeks of age (21 days). From day 22, all birds received diets sorghum-soybean meal until day 49. The results obtained in Experiment 1 at 49 days, showed that there was significant effect on ($P < 0.05$) weight gain, feed conversion and carcass weight, due the addition of 700 ppm of the mixture of glutamine + glutamic acid. In Experiment 2, the effect of Glutamine + Glutamic Acid on immunity, gut integrity and productive behavior of birds at 49 days of age were evaluated. The average results obtained at 21 days of age to gain weight and 49 days of age for carcass weight, flock uniformity, villus height, hemagglutination inhibition, and determination of IgA showed significant ($P < 0.05$) by addition of 700 ppm Glutamine + Glutamic Acid. Measurement of gut at 35 days of age villi showed higher growth with 700 ppm ($P < 0.01$). In feed intake and feed conversion, weight gain, carcass yield, yield leg with thigh, yellowness breast, yellowness of the skin and test hemagglutination at 14 days, no significant difference was found ($P > 0.05$) between treatments. The results obtained under the experimental conditions employed in the two experiments, indicated that the addition of Glutamine + Glutamic acid 700 ppm and 1400 ppm in broiler diets indicated, have a positive effect on performance, villi length and immune response.

Keywords: Glutamine, Glutamic Acid, performance, intestinal villi, immune response.

CONTENIDO

| | |
|--|------------|
| DEDICATORIAS..... | II |
| AGRADECIMIENTOS..... | III |
| RESUMEN..... | IV |
| ABSTRACT..... | V |
| CONTENIDO..... | VI |
| LISTA DE CUADROS..... | VII |
| LISTA DE FIGURAS..... | IX |
| 1. INTRODUCCIÓN..... | 1 |
| 1.1 Aminoácidos..... | 2 |
| 1.2 Glutamina..... | 5 |
| 1.3 Ácido Glutámico..... | 9 |
| 1.4 Utilización de Glutamina y Ácido Glutámico..... | 10 |
| 1.5 Sistema Inmune..... | 12 |
| 1.5.1 Sistema inmune digestivo de las aves..... | 12 |
| 1.5.2 Inmunidad innata..... | 13 |
| 1.5.3 Mecanismos de defensa inespecíficos..... | 14 |
| 1.5.4 Sistema inmune adaptativo..... | 15 |
| 2. JUSTIFICACIÓN..... | 16 |
| 3 HIPÓTESIS..... | 17 |

| | | |
|-----------|--|-----------|
| 4 | OBJETIVO GENERAL..... | 18 |
| 5 | OBJETIVOS PARTICULARES..... | 19 |
| 6 | MATERIAL Y MÉTODOS..... | 21 |
| | 6.1 Obtención de muestras de tejido (Experimento 2)..... | 25 |
| | 6.2 Procesamiento de los tejidos (Experimento 2)..... | 25 |
| | 6.3 Histometría (Experimento 2)..... | 26 |
| | 6.4 IgA intestinal (Experimento 2)..... | 26 |
| | 6.5 Prueba de ELISA(Experimento 2)..... | 26 |
| | 6.6 Hipersensibilidad cutánea basofílica (Experimento 2)..... | 27 |
| 7 | RESULTADOS | 28 |
| 8 | DISCUSIÓN..... | 33 |
| 9 | CONCLUSIONES..... | 40 |
| 10 | BIBLIOGRAFÍA CITADA..... | 41 |
| 11 | CUADROS..... | 46 |
| 12 | FIGURAS..... | 53 |

LISTA DE CUADROS

| | |
|--|-----------|
| Cuadro 1: Composición de las dietas experimentales de iniciación, crecimiento y finalización empleadas en los Experimentos 1 y 2..... | 46 |
| Cuadro 2. Variables productivas de pollitos de 0- 21 días. Experimento 1..... | 47 |
| Cuadro 3. Variables productivas de pollitos de 0- 49 días. Experimento 1..... | 47 |
| Cuadro 4. Rendimiento de las canales y pigmentación amarilla de la piel a los 49 días de edad en pollos. Experimento 1..... | 48 |
| Cuadro 5. Datos promedio en pollos de 0- 21 días de edad. Experimento 2..... | 48 |
| Cuadro 6. Comportamiento productivo de pollos de 0- 49 días. Experimento 2..... | 49 |
| Cuadro 7. Rendimiento de la canal y coloración de la piel de pollos de 49 días de edad. Experimento 2..... | 49 |
| Cuadro 8. Uniformidad de la parvada de pollo de engorda a los 49 días de edad en el Experimento 2..... | 50 |
| Cuadro 9. Longitud de las vellosidades intestinales (μm) en duodeno de pollos de 35 días de edad. Experimento 2..... | 50 |
| Cuadro 10. Resultados promedio de absorbancia en la Prueba de Inhibición de la Hemoaglutinación en los días 14,21 y 28 días de edad en el experimento 2..... | 51 |
| Cuadro 11. Resultados de la prueba de hipersensibilidad cutánea basofílica en los días 21 y 35 de edad en el Experimento 2. (PHA=Fitohe maglutinina y SS= Solución Salina Estéril)..... | 51 |
| Cuadro 12. Resultados de la prueba de ELISA, para la determinación de IgA Intestinales. Experimento 2..... | 52 |

LISTA DE FIGURAS

| | |
|--|-----------|
| Figura 1: Datos promedio de ganancia de peso a los 49 días (g) Experimento 1..... | 53 |
| Figura 2: Resultados promedio de conversión alimenticia a los 49 días (kg:kg) Experimento 1..... | 53 |
| Figura 3: Datos promedio de peso de la canal (g) Experimento 1..... | 54 |
| Figura 4: Ganancia de peso a los 21 días en el Experimento 2..... | 54 |
| Figura 5: Datos promedio de peso de la canal (g) Experimento 2..... | 55 |
| Figura 6: Resultados promedio de uniformidad de la parvada en porcentaje (%) en el Experimento 2..... | 55 |
| Figura 7: Resultados promedio de la medición de la altura de las vellosidades Intestinales (duodeno) al día 35 en el Experimento 2..... | 56 |
| Figura 8: Resultados promedio de absorbancia de la prueba de inhibición de la Hemaglutinación (Log^2) a los 21 días de edad en el Experimento 2..... | 56 |
| Figura 9: Resultados promedio de absorbancia de la prueba de inhibición de la hemaglutinación (Log^2) a los 35 días de edad en el Experimento 2..... | 57 |
| Figura 10: Resultados de la prueba de Hipersensibilidad cutánea basofílica tardía a los 21 días de edad (mm) en el Experimento 2..... | 57 |
| Figura 11: Resultados de grosor interdigital la prueba de Hipersensibilidad cutánea basofílica tardía a los 35 días de edad (mm) en el Experimento 2..... | 58 |
| Figura 12: Resultados promedio de la prueba de ELISA para la determinación de la concentración de IgA intestinales (ng/mL) Experimento 2..... | 58 |

1. INTRODUCCIÓN

El desarrollo que ha logrado la industria avícola productora de pollo de engorda durante los últimos 50 años ha sido notable, debido a las mejoras realizadas en la genética, alimentación, control y prevención de enfermedades, planta de procesamiento, incubación y nacedoras. En la actualidad la carne de pollo, es la fuente de proteína de origen animal de mayor consumo y de menor costo a nivel mundial (Mack et al, 2005).

El alimento balanceado, representa aproximadamente 70 % del costo total de la producción, esto significa que el precio del alimento influye considerablemente en la relación costo-beneficio de la explotación (Cuca et al, 2009).

El costo de los insumos empleados en la elaboración de alimentos balanceados para animales, ha ido aumento; en especial los granos forrajeros, principalmente en la avicultura que tiene al maíz como base de su alimentación (FAO, 2013). En el año 2000, datos de la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO por sus siglas en Inglés), para el mes de Enero reportaban los precios del Maíz 92.64 USD/Ton, Sorgo 91.05 USD/Ton y Soya: 206.65 USD/Ton. Para Marzo de 2013 esta misma organización reportó los siguientes precios; Maíz 308.95 USD/Ton, Sorgo: 296.50 USD/Ton y Soya 587.50 USD/Ton. Lo cual indica que en los últimos 13 años el costo de la materia prima ha aumentado en casi tres veces su costo, lo cual genera un impacto importante en la avicultura y sobre todo en el consumidor final, ya que los costos de producción aumentan y esto hace que se eleven los costos al consumidor. La causa del aumento en el costo de los granos forrajeros en el año 2012, se debió principalmente a la fuerte sequia que afectó a los Estados unidos repercutiendo en el 75% de la superficie de

cultivo de maíz, soya y sorgo de dicho país y que repercute fuertemente en la avicultura mexicana, debido a la gran dependencia que se tiene por la importación de granos (UNA, 2013).

Los alimentos balanceados de las aves contienen cereales, pasta de soya, harina de pescado, harina de carne, aceite o grasa, vitaminas y minerales. Los cuales proporcionan los nutrimentos esenciales para el metabolismo del animal. También se agregan aditivos como las xantofilas para pigmentar la piel, antimicrobianos o probióticos y enzimas como promotores del crecimiento, con la finalidad de mejorar el aprovechamiento de los nutrientes (Cuca et al, 2009).

La alimentación, juega un papel sumamente importante para sustentar y lograr la máxima expresión productiva en las aves. Por eso es importante, buscar alternativas que permitan incrementar la productividad de las aves; tal es el caso de los aminoácidos no esenciales Glutamina y Ácido Glutámico (Cuca et al, 2009).

1.1 Aminoácidos

La importancia de los aminoácidos en la nutrición, se demuestra por las numerosas funciones que las proteínas desarrollan en el organismo animal. Son constituyentes indispensables de todos los tejidos del animal, sangre, musculo, plumas, etc. Todas las proteínas están constituidas por aminoácidos unidos covalentemente. Estructuralmente, la mayoría de los aminoácidos se caracterizan por poseer un carbono asimétrico α con cuatro radicales, un grupo amino (NH_2), un grupo funcional carboxilo (R-COO^-), un átomo de hidrógeno, un grupo R o cadena lateral (Mack et al, 2005; Gil, 2010).

No todos los aminoácidos conocidos se encuentran formando parte de las proteínas, solo 20 aminoácidos distintos se encuentran presentes en las proteínas. En el caso de las aves, se consideran esenciales 10 aminoácidos, aunque en ocasiones la Glicina es considerada dentro de este grupo, debido a su importancia en la síntesis de ácido úrico, especialmente en dietas de origen vegetal, con bajo contenido de este aminoácido. Estos aminoácidos reciben el nombre de esenciales debido a que el organismo animal no los puede sintetizar (Cuca et al, 2009).

Cabe mencionar que la síntesis de aminoácidos se da cuando los organismos han cubierto sus requerimientos energéticos (estados energéticos positivos), ya que de no ser así, si están deficientes, los esqueletos carbonados serán utilizados en su mayoría para la formación de energía, con la pérdida de aminoácidos que no podrán formar proteína (Cuca et al, 2009).

Las aves requieren que la dieta contenga una fuente de proteína que proporcione los 10 aminoácidos esenciales y los sustratos necesarios para la síntesis de los aminoácidos no esenciales, es por eso que la nutrición en los últimos años juega un papel muy importante, debido a la disponibilidad de los aminoácidos sintéticos, metionina, lisina, treonina, y triptófano que son los aminoácidos más limitantes en las aves, permitiendo disminuir los niveles de proteína en la dieta, sin mostrar un efecto negativo en el desarrollo de las aves.

Por otro lado existe el interés y las investigaciones por parte de la industria avícola por producir a nivel comercial aminoácidos indispensables para las aves, como son la valina, isoleucina y la glutamina. Estos aminoácidos que el ave no puede sintetizar (en el caso de

la glutamina que se sintetiza, pero bajo algunas circunstancias su síntesis es deficiente), deben estar presentes en la dieta para la formación de cada una de las proteínas del organismo (Cuca et al, 2009).

Existe un segundo grupo de aminoácidos llamados no esenciales, estos aminoácidos se requieren para la síntesis de proteína en el organismo, no se establece un requerimiento mínimo de estos aminoácidos en la dieta, ya que el ave es capaz de sintetizarlos a través de la transferencia de grupos aminos de algunos aminoácidos que se presenten en exceso durante el metabolismo de los carbohidratos o por algunos aminoácidos esenciales como la fenilalanina la cual se puede transformar en tirosina, lo mismo sucede con la metionina a partir de la cual el organismo sintetiza la cistina. Este grupo de aminoácidos no esenciales incluye a: alanina, glicina, serina, tirosina, ácido aspártico, ácido glutámico, cistina, prolina e hidroxiprolina (Cuca et al, 2009; D'Mello, 2003).

En 1987 Laidlaw y Kopple propusieron una subdivisión de los aminoácidos no esenciales, dividiéndolos en no esenciales verdaderos y en condicionalmente esenciales. Con base en esta propuesta, se consideran como aminoácidos verdaderos a la alanina, el ácido aspártico, la asparagina, el ácido glutámico y la serina, ya que pueden ser sintetizados a partir de otros aminoácidos o de metabolitos nitrogenados en cantidades suficientes en cualquier circunstancia fisiológica o patológica. Otros aminoácidos como la arginina, cistina, glicina, glutamina, prolina y tirosina, son propuestos como condicionalmente esenciales, ya que sus requerimientos se incrementan en circunstancias fisiopatológicas (Gil, 2010).

En los últimos años se ha utilizado a la glutamina en la alimentación de los cerdos, debido a que se ha encontrado efectos favorables en el desarrollo e integridad de las vellosidades intestinales que han servido para que esta especie se le considere como un modelo para la investigación del intestino delgado, por la homología que se ha encontrado entre los cerdos, humanos, caninos, felinos y otras especies de monogástricos. El intestino delgado del perro, gato, cerdo y potro son muy similares en morfología y fisiología durante el primer año de vida (Remillard et al, 1998).

1.2 Glutamina.

La característica más importante que posee el aminoácido glutamina, es en cuanto a su composición, es la de presentar dos grupos aminos en lugar de uno; así, la producción de glutamina ayuda a extraer el amoniacó de los tejidos, lo cual lo hace el principal medio de transporte de nitrógeno en el organismo (Nelson y Cox, 2005).

La glutamina es el aminoácido libre más abundante en el músculo, además está involucrada en numerosas vías metabólicas en distintos órganos y sistemas; en el metabolismo intermediario celular, participa en el ciclo de Krebs como donante de carbonos. Para ello, se hidroliza liberando amonio (procedente del grupo α -amino) transformándose en ácido glutámico. Este se transforma en α -cetoglutarato por medio de la transaminación, liberando el grupo amonio y entrando en el ciclo de Krebs (Bonet y Grau, 2007; Roth, 2008).

La condicionalidad del aminoácido se debe, a que bajo condiciones de estrés como la sepsis, el estrés quirúrgico y politraumatismos, la demanda de la glutamina aumenta y el

organismo es incapaz de sintetizarlo en cantidades adecuadas (Newsholme, 2001; Calder et al, 2002; Wu et al, 1995; Li et al, 2007; Tavernari et al, 2008; Gil, 2010).

En la sangre, la glutamina alcanza concentraciones basales de 650 mmol/L; en el músculo constituye 61 % de los aminoácidos, lo que representa la mitad del total de los aminoácidos corporales, siendo la glutamina, la molécula que se encuentra en mayor cantidad en el “fondo común” o “pool de aminoácidos” de aminoácidos libres en el organismo, al cual la célula recurre cuando debe de sintetizar nuevas proteínas o compuestos relacionados. La principal función que se maneja de la glutamina, es la de transportar grupos nitrogenados desde los tejidos periféricos, al tejido muscular principalmente, y luego al hígado, los enterocitos, las células inmunitarias y al riñón (Newsholme, 2003; Gil, 2010; Nelson y Cox, 2005; Calder, 2002; Buchman, 2001).

Otra de las funciones de la glutamina es que ayuda a extraer el amoníaco de los tejidos, lo que hace de ella, el principal medio de transporte de nitrógeno en el organismo (Nelson y Cox, 2005). La glutamina es el substrato energético muy importante para células de división rápida, como los fibroblastos, enterocitos y linfocitos; además otros tipos de células como macrófagos y células renales, suministrando ATP para la renovación de la proteína intracelular, transporte de nutrientes a través de la membrana plasmática, crecimiento y migración celular; así como, para el mantenimiento de la integridad de la celular (Souba, 1993; Calder et al, 2002; Gil, 2010). La glutamina es importante para la regulación del equilibrio ácido-base, debido a que una vez que se metaboliza en el riñón, por cada molécula de glutamina se secretan dos iones NH_4^+ en la orina y se reabsorben dos HCO_3^- hacia la sangre (Guyton y Hall, 2006). La glutamina participa como donador de

grupos aminos en la síntesis de los nucleótidos purina y pirimidina; esenciales, para la proliferación de células, incluyendo los linfocitos, células embrionarias y trofoblastos. (D'Mello, 2003). La glutamina es esencial para la síntesis endógena de arginina en la mayoría de los mamíferos, como cerdos, bovinos y ovinos, a través del eje intestinal-renal. Esta vía sintética compensa una deficiencia de arginina (aminoácido esencial para neonatos), en la leche durante el periodo de amamantamiento, así como del intenso catabolismo de arginina dietética en el intestino delgado de los animales recién destetados (Wu y Morris, 1998). Además, la glutamina es necesaria para la síntesis de N-acetilglucosamina-6-fosfato, sustrato común para la síntesis de glicoproteínas que son abundantes en las células de la mucosa intestinal; actúa como sustrato del ácido glutámico. La glutamina actúa en la síntesis del glutatión, antioxidante que ayuda a proteger a las células de especies reactivas de oxígeno como los radicales libres y los peróxidos (Curi et al, 2005; Reeds et al, 2000).

La glutamina, aumenta la expresión de genes relacionados al metabolismo de nutrientes y a la supervivencia de las células (Curi et al, 2005). Estos genes incluyen a la ornitina descarboxilasa, a proteínas del choque térmico y de la síntesis de óxido nítrico. La ornitina descarboxilasa en particular, es una enzima clave para la síntesis de poliaminas que estimulan la síntesis de ADN y de proteína; las proteínas del choque térmico son esenciales para proteger a las células de la muerte y la síntesis del óxido nítrico convierte arginina en ácido nítrico, el cual es una molécula de señalización que regula prácticamente todas las funciones celulares. Además, la glutamina aumenta la actividad de la rapamicina en mamíferos (mTOR- mammalian target of Rapamycin), una proteína quinasa que regula

la síntesis proteica e inhibe la proteólisis en el músculo esquelético de los animales, incluyendo a las aves (Wu y Morris, 1998). El descubrimiento de la vía de la señalización de la mTOR y su activación por la glutamina, es un avance reciente para la nutrición. Finalmente, la glutamina estimula la secreción de hormonas anabólicas como son la insulina y la hormona del crecimiento, e inhibe la secreción de hormonas catabólicas, como los glicocorticoides, favoreciendo por lo tanto, la deposición proteica y el crecimiento celular en los animales (Curí et al, 2005).

También se menciona que la glutamina juega un papel importante en la formación de glicoproteínas como: N-acetilglucosamina y N-acetilgalactosamina, se presenta por la unión que existe de los carbohidratos al grupo amino de la cadena lateral, formando un enlace N-glucosido. La glutamina es parte fundamental de la mucina; la cual tiene la función de ser una barrera de protección (mucosa intestinal), impidiendo que microorganismos patógenos como *E. Coli* causante de diarreas y muertes neonatales en los lechones, se puedan adherir a los enterocitos y evitar que se pierda la integridad y funcionalidad intestinal (Yi et al, 2004; Villarino y Melo, 2012).

Existen trabajos, con glutamina con el fin de prevenir la atrofia de las vellosidades intestinales, tomando como ejemplo a los pacientes hospitalizados que por alguna cuestión de salud o por indicación médica pudiera llegar a padecer atrofia intestinal, y no se les puede suministrar nada por vía oral. Por lo tanto, al suministrar pequeñas cantidades de glutamina por vía intravenosa, comprobaron que se prevenía la atrofia de las vellosidades (Remillard et al, 1998; Fischer et al, 2002).

Pocos estudios se han realizado con glutamina en la alimentación de las aves, los resultados de estas investigaciones han demostrado ser similares a los encontrados en los cerdos (Yi et al, 2004). En pollos se ha observado un mayor crecimiento de las microvellosidades intestinales, lo que se manifiesta con una mayor ganancia de peso debido a que la superficie de absorción intestinal es mayor. Por otro lado, Silva et al. (2007) señalan, que la glutamina estimula el desarrollo del tubo gastrointestinal y la respuesta inmune ante un agente patógeno.

1.3 Ácido Glutámico.

Es un aminoácido no esencial, el más abundante de los aminoácidos intracelulares, a diferencia de la glutamina que es el más abundante de los aminoácidos extracelulares. El ácido glutámico, forma a la glutamina y viceversa. Bioquímicamente el ácido glutámico puede desempeñar muchas funciones en lugar de la glutamina, como son la producción de ATP, síntesis de arginina y síntesis de glutatión en el epitelio celular del intestino delgado. Por otra parte el ácido glutámico, inhibe la degradación de glutamina por la glutaminasa mitocondrial fosfato-dependiente de los tejidos extrahepáticos, no obstante el ácido glutámico no puede realizar algunas funciones claves de la glutamina, como por ejemplo, la síntesis de glucosamina, la síntesis de nucleótidos, la activación del mTOR y la regulación de la expresión de la ornitina descarboxilasa. Adicionalmente, a pesar de que tanto la glutamina como el ácido glutámico suministrados por la dieta, son catabolizados

por el intestino delgado, este solo capta glutamina de la circulación sanguínea y no así el ácido glutámico (Nelson y Cox, 2005).

1.4 Utilización de Glutamina y Ácido Glutámico.

En un inicio, las primeras investigaciones que se realizaron con el uso de estos aminoácidos fue observar un efecto benéfico en los animales, adicionando 1% de glutamina pura en el alimento (Watford, 2012). Posteriormente surgió el uso de los aminoácidos glutamina y ácido glutámico en la alimentación de los animales. Esta combinación se ha estudiado principalmente en los cerdos, autores como Lopes y Rostagno (2001) realizaron una investigación con la finalidad de evaluar el efecto que tienen estos aminoácidos en el rendimiento de los lechones, el índice de diarreas y la morfología intestinal. Los resultados mostraron un efecto favorable en las variables antes señaladas, cuando se adicionó a la dieta de los animales el producto comercial compuesto por los dos aminoácidos antes mencionados.

Watford et al. (2011) mencionan que la utilización de Glutamina y Ácido Glutámico ayuda a mantener un estado de salud óptimo, además de ayudar a los animales recién nacidos a mantener una tasa de crecimiento favorable, que beneficia a los animales a expresar un máximo potencial de crecimiento.

Por su parte Molino et al. (2012) realizaron una investigación, en la que al adicionar glutamina y ácido glutámico a la dieta de los lechones destetados, notaron una influencia

positiva en el peso de los lechones de los 21 a los 49 días de edad y mostrando un aumento de las vellosidades intestinales de duodeno, yeyuno e íleon.

Otros estudios que se han realizado con la utilización de glutamina + ácido glutámico, muestran la importancia que tienen estos aminoácidos, para la producción de leche durante la lactancia. La glutamina es el aminoácido más abundante en la leche (Watford, 2012), la lactancia se asocia con un aumento en la utilización de glutamina para la síntesis de la leche, provocando un estado catabólico en el cual proteínas de músculos se degradan para proporcionar aminoácidos que se utilizan para sintetizar glutamina adicional (Watford, 2012). Otro estudio en el que se suplementó la dieta para cerdas jóvenes con L-Glutamina + Ácido Glutámico, a razón de 2.5% de la mezcla comercial en el alimento a cerdas jóvenes a partir de 30 días antes del parto y hasta 21 días después del parto; hubo una disminución de la glutamina muscular y benefició el desarrollo de los lechones durante el periodo de lactación (Manso et al, 2012; Self et al, 2004).

Miguel et al. (2009), realizaron investigación en pollos de engorda alimentados con una dieta con base sorgo + pasta de soya, en la que adicionaron 200, 400, 600 y 800 ppm de un producto con glutamina + ácido glutámico, durante los primeros 21 días de vida. Los resultados que obtuvieron en dicha investigación fueron la mejora en ganancia de peso, conversión alimenticia y rendimiento de la canal a los 49 días de edad en los tratamientos que se les adicionó glutamina, pero los mejores resultados se obtuvieron en el tratamiento que incluía la cantidad menor de Glutamina.

1.5 Sistema inmune.

El sistema inmune de los animales vertebrados, ha evolucionado a lo largo del tiempo para protegerlo de diversos patógenos como: bacterias, virus, hongos, parásitos u otros agentes que pueden provocar enfermedades, y bajo circunstancias especiales ante sus propias estructuras (auto- inmunidad). La principal finalidad fisiológica del sistema inmune, es la de prevenir infecciones y erradicar aquellas que ya estén establecidas. El sistema inmune se vale de una colección de células, tejidos y moléculas (respuesta inmune), que responden ante diferentes agentes empleando dos tipos de mecanismo de defensa o de inmunidad: inmunidad innata o respuesta inmune de tipo innata, e inmunidad adaptativa o respuesta inmune de tipo adaptativa, cada una de ellas con características específicas (Abbas y Lichtman, 2004).

1.5.1 Sistema inmune digestivo de las aves.

La importancia del sistema inmune digestivo en las aves, consiste en la estrecha relación que existe entre bacterias benéficas y patógenas, mecanismos de resistencia y de respuesta inmune específica, lo cual tiene como objetivo mantener la homeostasis en el tracto digestivo. Anteriormente, se consideraba que el tracto digestivo solo realizaba funciones metabólicas como la digestión, absorción y metabolismo de los nutrientes. Actualmente se sabe que también realiza funciones inmunológicas. El sistema inmune digestivo, se considera el sitio que contiene la mayor cantidad de células organizadas que se encuentran en diferentes estructuras, tales como las Placas de Peyer, Tonsilas Cecales, Divertículo de Meckel, Tonsila Esofágica, Tejido Linfoide Asociado a Mucosas y Bolsa de

Fabricio. De aquí la gran importancia que tiene el estudio del sistema inmune digestivo, para poder aplicar los conocimientos y estudios en mejoras que se vean reflejadas en la granjas comerciales con el fin de optimizar las funciones y lograr mejoras productivas (Gómez et al, 2010).

1.5.2. Inmunidad innata.

La inmunidad innata es la primera línea de defensa contra microorganismos invasores o patógenos, impidiéndoles la entrada y penetración en el organismo. Las formas de entrada más comunes de los microorganismos patógenos hacia el organismo del huésped son la piel, tracto digestivo y tracto respiratorio. Existen mecanismos físicos o estructurales como el epitelio que recubre los tejidos digestivo y respiratorio. Su integridad evita la entrada de agentes patógenos ejerciendo una función de barrera física. En el caso del sistema digestivo encontramos a las vellosidades, los movimientos peristálticos y la producción de moco que tiene la función de retener agentes y desplazarlos hacia el exterior por medio de un sistema de cilios presentes en los epitelios. Intervienen factores químicos como el pH, presente en las diferentes regiones del tracto digestivo que impiden el establecimiento de algunos microorganismos evitando el desarrollo de infecciones (Fearon y Locksley, 1996). También están presentes proteínas como la lisozima que es sintetizada en la base de las criptas intestinales y puede inactivar algunas bacterias debido a que degrada sus paredes celulares.

A nivel del epitelio existen células especializadas en capturar antígenos y transportarlos a los tejidos linfoides periféricos (Mayer, 2003; Abbas y Lichtman, 2004). Aunque, no todos los organismos multicelulares (vertebrados, invertebrados y plantas), poseen

mecanismos inmunológicos con el mismo grado de complejidad. Todos ellos poseen mecanismos intrínsecos que siempre están presentes y listos para reconocer y eliminar microbios, los cuales constituyen el sistema inmune innato. Se pensó que este sistema era inespecífico y que carecía de efectividad ante el combate de infecciones, actualmente se sabe que el sistema inmune innato puede responder específicamente hacia otros microbios, llegando a ser considerado como un mecanismo de defensa que es capaz de controlar y eliminar infecciones antes de que el siguiente sistema que es el sistema adaptativo, entre en función. Por otro lado, el sistema inmune innato, ayuda al sistema inmune adaptativo para que pueda actuar en contra de los diferentes agentes patógenos de una manera más efectiva (Gómez et al, 2010).

1.5.3 Mecanismos de defensa específicos

Estos actúan cuando el organismo está expuesto a un antígeno y desarrolla una defensa específica para actuar contra dicho antígeno y poder generar memoria. Estos mecanismos, se generan por medio de la respuesta inmune humoral y celular. La respuesta inmune humoral, se lleva a cabo mediante la producción de inmunoglobulinas o anticuerpos producidos por las células plasmáticas, creadas por estimulación de los linfocitos B; mientras que en la respuesta inmune celular, se encarga de reconocer y responder de una manera específica a los antígenos extraños, actuando los linfocitos T, Para que el proceso de reconocimiento y activación se lleve a cabo este se requiere que actúen las células presentadoras de antígenos (Gómez et al, 2010).

1.5.4 Sistema Inmune Adaptativo

Está conformado por células antígeno-específicas linfocitos T y B, produciendo sustancias que provocan una reacción específica en el organismo, a estas sustancias se le llama antígenos (Gómez et al, 2010).

Las células B presentan en su membrana celular receptores que corresponden a las inmunoglobulinas, mientras que las células T presentan receptores en la membrana llamados receptor de células T o TCR (por sus siglas en ingles) (Gómez et al, 2010).

Con estos antecedentes, se planteó como objetivo del presente estudio, para conocer el efecto que sobre el comportamiento productivo, integridad intestinal y la inmunidad de las aves, tiene adicionar en la dieta para pollos de engorda, diferentes dosis de los aminoácidos Glutamina y ácido Glutámico.

2. JUSTIFICACIÓN

La alimentación de las aves juega un papel fundamental para lograr la máxima expresión productiva de las aves en confinamiento, esto se ha logrado debido a un mejor conocimiento de las funciones de los distintos nutrimentos que componen las dietas de las aves; lo que permite que se cubran con mayor precisión las necesidades nutrimentales. Por eso es importante buscar alternativas, que favorezcan a la Avicultura para poder ser más eficiente y seguir proporcionando proteína de origen animal a la población.

3. HIPÓTESIS:

Se realizaron dos experimentos con pollos de engorda, con la hipótesis siguiente:

La adición de 0, 700, 1400, 2100 y 2800 ppm de un producto a base de glutamina + ácido glutámico (Aminogut® concentración del producto, Min 10% de L-Glutamina y 10 % de L-Ácido Glutámico), a dietas sorgo + soya en los primeros 21 días de vida, no mejora el comportamiento productivo, la integridad intestinal, ni la respuesta inmune de los pollos de engorda.

4. OBJETIVO GENERAL

Evaluar el comportamiento productivo, morfología intestinal y la respuesta inmune de pollos de engorda de la estirpe Ross 308, alimentados con dietas sorgo + soya, con diferentes niveles de un producto comercial con base en glutamina y ácido glutámico los primeros 21 días de vida.

5. OBJETIVOS PARTICULARES

Experimento 1.

1.- Evaluar las variables productivas (ganancia de peso, consumo de alimento, índice de conversión, mortalidad general, rendimiento de la canal y pigmentación de la piel en canal) de pollos de engorda de la estirpe Ross 308, alimentados con diferentes niveles del producto AminoGut*® a base de glutamina + ácido glutámico los primeros 21 días de edad.

Experimento 2.

1. Evaluar los parámetros productivos (ganancia de peso, consumo de alimento, índice de conversión, mortalidad general, uniformidad de la parvada, rendimiento de la canal y pigmentación de la piel en canal) de pollos de engorda de la estirpe Ross 308, alimentados con diferentes niveles del producto AminoGut*® a base de glutamina + ácido glutámico los primeros 21 días de edad.

2. Evaluación de la integridad de las vellosidades intestinales (duodeno) por medio de cortes histológicos en pollos de engorda de la estirpe Ross 308 alimentados con diferentes niveles del producto AminoGut*® a base de glutamina + ácido glutámico los primeros 21 días de edad.

3. Evaluar la respuesta inmune celular y humoral por medio de pruebas de laboratorio

(Inhibición de la Hemaglutinación, ELISA); y prueba de hipersensibilidad tardía.

***® AminoGut. Marca registrada Ajinomoto Nutritional Animal.**

6. MATERIAL Y METODOS

Se llevaron a cabo dos experimentos, en las instalaciones del Centro de Enseñanza, Investigación y Extensión en Producción Avícola (C.E.I.E.P.Av.) de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México, el cual se localiza en la calle Manuel M. López S/N en la Colonia Santiago Zapotitlán, Delegación Tláhuac, Distrito Federal a una altura de 2250 msnm, en el paralelo 19°17' latitud norte y el meridiano 99° 02' 30" longitud oeste. Bajo condiciones de clima templado subhúmedo (Cw), Enero es el mes más frío y Mayo el más caluroso, la temperatura promedio anual es de 16°C y con una precipitación pluvial anual media de 747 mm (INEGI, 1992).

El Experimento 1, se llevó a cabo entre los meses de Agosto y Septiembre. Se utilizaron 300 pollitos de la estirpe Ross 308 de 1 día de edad, adquiridos en una incubadora comercial. Las aves fueron distribuidas en 15 lotes de 20 pollos cada uno (mitad machos y mitad hembras), alojados en una caseta convencional en corrales con piso de cemento, cama de viruta, sin aislamiento térmico en el techo y cortinas laterales. En cada corral se maneja una densidad de población de 10 aves/m² a los 49 días de edad.

El Experimento 2, se realizó entre los meses de Febrero y Marzo, se utilizaron 800 pollitos de la estirpe Ross 308 de 1 día de edad, que se obtuvieron de una incubadora comercial. Las aves fueron distribuidas en 25 lotes de 32 pollos cada uno (mitad machos y mitad hembras), alojados en una caseta convencional corrales con piso de cemento, cama de viruta, aislamiento térmico en el techo y cortinas laterales. En cada corral se manejó una

densidad de población de 12 aves/m². Las aves se pesaron al final del Experimento (a los 49 días de edad) una por una, para calcular la uniformidad de la parvada.

En ambos experimentos, a las aves se les proporcionó calor durante las primeras 4 semanas de vida con criadoras infrarrojas (Quintana, 2011). En el Experimento 1, la distribución de los pollos se realizó completamente al azar en 5 tratamientos, cada uno con 3 repeticiones de 20 aves cada una. En el Experimento 2, la distribución también fue, completamente al azar de los pollos en 5 tratamientos, cada uno con 5 repeticiones de 32 aves cada una.

En los dos experimentos, las aves fueron alimentadas, con dietas a base de sorgo + pasta de soya durante todo el ciclo; se manejaron 3 etapas de alimentación, de 0-10 días inicio, de 11 – 21 días crecimiento y finalización de 22 – 49 días (Lesson y Summers 2005). La glutamina + ácido glutámico se adicionaron a las dietas, por medio de una mezcla comercial que contenía a los 2 aminoácidos, se proporcionó de los 0 – 21 días de edad (etapas de iniciación y crecimiento), posteriormente se les proporcionó a todos los tratamientos dietas de finalización de los 22 a los 49 días de edad. El alimento se suministró a libre acceso durante todo el ciclo productivo. Las dietas utilizadas en ambos experimentos, se muestran en el Cuadro 1.

Los tratamientos experimentales, fueron conformados de la siguiente forma en los dos experimentos:

- T1= Dieta Sorgo + Pasta de Soya
- T2= T1 + 700 ppm de la mezcla de Glutamina + Ácido Glutámico* durante 21 días.
- T3= T1 + 1400 ppm de la mezcla de Glutamina + Ácido Glutámico* durante 21 días.
- T4= T1 + 2100 ppm de la mezcla de Glutamina + Ácido Glutámico* durante 21 días.
- T5= T1 + 2800 ppm de la mezcla de Glutamina + Ácido Glutámico* durante 21 días.

*Glu/Gln

El agua, se ofreció en ambas investigaciones a libre acceso durante los 49 días de experimentación. Las aves fueron vacunadas a los 8 días de edad contra la Enfermedad de Newcastle vía ocular (una gota/pollo) y por vía subcutánea contra Enfermedad de Newcastle-Influenza Aviar (0.5 ml/ave). A los 16 días de edad fueron revacunadas solamente vía subcutánea contra ENC/IA.

Durante los estudios, se llevaron registros semanales, durante todo el ciclo de producción, de ganancia de peso, consumo de alimento, índice de conversión, uniformidad de la parvada y porcentaje de mortalidad.

En el Experimento 2; Al día 35 de edad, fueron sacrificadas 15 aves por tratamiento, para poder determinar la morfología de las vellosidades intestinales de duodeno. A esas mismas aves sacrificadas, se les tomaron muestras para determinar IgA secretora como lo señalan Gómez et al. (2010), las porciones de duodenos que se tomaron, fueron de 1 cm³ aproximadamente por muestra.

A los 14, 21 y 35 días de edad se tomaron, de cada tratamiento, muestras de sangre para realizar la prueba de Inhibición de la Hemaglutinación en suero. Para evaluar la respuesta inmune humoral se tomaron muestras de sangre, de cada tratamiento.

Los días 21 y 35 de edad se evaluó la respuesta inmune celular, por medio de la prueba de Hipersensibilidad cutánea basofílica, cuando se inoculó en la membrana interdigital de los miembros inferiores de las aves 10 pollos por tratamiento empleando, la metodología descrita por Gómez et al. (2010), se describe en el punto 6.6 de este trabajo.

Al final de los experimentos, se sacrificaron en la planta de procesamiento del CEIEPAV, 15 aves por tratamiento. Antes del sacrificio, las aves fueron sometidas a un ayuno de 8 horas, se pesaron individualmente, para calcular el rendimiento de la canal, pechuga, pierna y muslo. Por otro lado, se midió la pigmentación amarilla (b) de la piel en caliente (después del sacrificio), en la región de la grasa de la pechuga, con un colorímetro de reflectancia de la marca Minolta® CR-400.

Los datos de las variables en estudio, fueron sometidos a un análisis de varianza conforme a un diseño completamente al azar y en caso de diferencia estadística, se realizó la comparación de medias a través de la prueba de Tukey a una probabilidad del 5% y 1%. Para la variable de porcentaje de mortalidad antes de su análisis, se hizo la transformación por raíz de arco-seno, antes de su análisis con el paquete estadístico MENU (Olivares, 1994).

6.1 Obtención de muestras de tejido (Experimentos 2)

La obtención de las muestras en las que se midió la longitud de las vellosidades intestinales, se realizó en 15 aves de cada tratamiento. Las aves se sacrificaron humanitariamente como lo marca la NOM-033-ZOO-1995. El acceso a la cavidad abdominal fue a 2 cm en dirección caudal, se obtuvieron los tejidos y se tomó una muestra a partir del asa duodenal con el empleo de bisturí, tijeras y pinzas. Los fragmentos de tejidos obtenidos fueron de aproximadamente 1cm^3 , para quitar el contenido intestinal, se utilizó solución salina fisiológica estéril a temperatura ambiente, para limpiar los fragmento de intestino. La técnica de fijación utilizada fue por perfusión luminal y posteriormente mediante inmersión formol al 10 %. El tiempo de fijación fue de 72 horas a temperatura ambiente (Estrada et al, 1982).

6.2 Procesamiento de los tejidos (Experimentos 2)

El procesamiento de las muestras, se realizó en el laboratorio de biología tisular del Departamento de Morfología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México. Los tejidos se procesaron mediante la técnica de inclusión en parafina. Para ello se utilizó un procesador automático de tejido (histoquinette), para deshidratar, aclarar e impregnar las muestras, los reactivos que se utilizaron fue alcohol, xilol (Baker®) y parafina (paraplast®). Con un micrótopo de la marca Leica® modelo RM215RT, se obtuvieron cortes de tejidos de $6\ \mu\text{m}$ de grosor a partir de los bloques de parafina. Los cortes se montaron en laminillas portaobjetos de 25X75 mm

y cubreobjetos de 0.8 – 1.1mm marca Corning®, finalmente se tiñeron con la técnica de Hematoxilina y Eosina. (Morales, 2013).

6.3 Histometría (Experimento 2).

Se analizaron 10 campos microscópicos por cada corte histológico (n=2 cortes por réplica, 12 por tratamiento). Las observaciones se realizaron a un aumento total de 40X, con un microscopio fotónico (Motic BA310®) adaptado a una cámara para microscopía digital (Moticam 2300®), y conectado a un equipo de cómputo (IMac®) de 21.5 pulgadas y mediante el software (Motic images plus, versión 2.0®) analizador de imágenes. Se midieron las vellosidades intestinales en una orientación longitudinal desde la punta a la base (cripta), los valores obtenidos fueron expresados en μm .

6.4 IgA Intestinal (Experimento 2).

Las muestras de intestino que se utilizaron para la medición histológica de las vellosidades, sirvieron para la determinación de la IgA Intestinal. Antes de fijar la muestra del intestino en formol al 10 %, se realizaron lavados con 10 ml de solución salina amortiguada con fosfatos (PBS) frío y estéril, pasando tres veces el PBS en la fracción del lumen intestinal, se recolectó y se centrifugó a 1,200xG. Se tomó el sobrenadante y se congeló a -20°C para su posterior evaluación con la prueba de ELISA.

6.5 Prueba de ELISA (Experimento 2).

Las placas de 96 pozos de fondo plano, se cubrieron con IgA (Chicken IgA ELISA¹ Quantitation Kit Bethyl Laboratories Inc PO Box 850 Montgomery TX 77356) de pollo

previamente reconstituida con buffer de carbonatos (0.05pH 9.6) toda la noche a 4°C. Se lavaron tres veces con PBS adicionado con Tween-20 al 0.05, se añadió una solución de bloqueo, con PBS, leche descremada al 0.5 %, Sacarosa 0.2 %, se lavaron y se depositaron las muestras de los lavados intestinales en tubos de ensaye con tapas y se incubaron una hora a 37 °C. Posteriormente, se retiraron y se lavaron 5 veces con PBS Tween-20 al 0.05 %; se añadió el conjugado HRP (goat anti-chicken IgA-HRP de Bethyl Laboratorios Inc.) incubándose, y nuevamente realizándose los cinco lavados, para poder añadir el sustrato ABTS (2,2'-azino-bis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid), en el que se incubó durante 20 minutos. La reacción se detuvo con la adición de la solución de ácido sulfúrico (H₂SO₄ 2M) y se realizó la lectura de la absorbancia a 405nm en un espectofotómetro Beckton Dickenson®.

6.6 Hipersensibilidad cutánea basofílica (Experimento 2).

A los 21 y 35 días de edad, se llevó a cabo la inoculación intradérmica de Fitohemaglutinina (PHA-A Sigma-Aldrich, Inc.), a una concentración de 0.1 mg/0.1 ml en la membrana interdigital de las falanges 3 y 4 de la extremidad inferior derecha, empleándose 2 pollos por réplica. En la membrana interdigital de la pata izquierda, se realizó el mismo procedimiento utilizando solución salina estéril (0.1 ml) como testigo. A las 24 hrs. pos-inoculación, se determinó el grosor de la membrana interdigital con un vernier digital (Gómez et al, 2010).

7. RESULTADOS

Experimento 1.

Los resultados que se obtuvieron, en relación a las variables productivas a los 21 días de edad, se observan en el Cuadro 2. No se encontraron diferencias significativas ($P>0.05$) entre tratamientos en ganancia de peso, consumo de alimento e índice de conversión.

Por otra parte, en el Cuadro 3, aparecen los datos promedio de los parámetros productivos a los 49 días de edad de las aves, observándose diferencia estadística ($P<0.05$) entre tratamientos para ganancia de peso (Figura 1), siendo mayor esta variable en el tratamiento 2 (3267g); respecto al tratamiento 1 testigo (2903g), mientras que este último fue similar a los tratamientos 3 (3047g), 4 (3017g) y 5 (2988g). En consumo de alimento la diferencia ($P<0.05$), la mostró el tratamiento 2 (5944g), ya que tuvo mayor ingesta de alimento con respecto a los tratamientos 1 (5684g), 3 (5780g), 4 (5884g) y 5 (5687g). En relación con la conversión alimenticia (Figura 2), la diferencia estadística ($P<0.05$) encontrada, fue entre el tratamiento 2 (1.82) y el tratamiento 1 (1.96), siendo mejor en el tratamiento 2 (requiere menos alimento por Kg de carne producida), aunque fue similar a la de los tratamientos 3 (1.90), 4 (1.95) y 5 (1.90) con mejor índice el tratamiento 2; es decir, requiere menos alimento por Kg de alimento.

En mortalidad general, no hubo diferencia ($P>0.05$) entre tratamientos, los resultados fueron similares como se nota en el Cuadro 3.

En el caso del rendimiento de la canal, los resultados se muestran en el Cuadro 4. Se observaron diferencias ($P < 0.05$), en peso de la canal (Figura 3); fue mayor en el tratamiento 2 (2375g) con respecto del tratamiento 1 (2008g) y 5 (2159), pero similar al tratamiento 3 (2254g) y 4 (2250g). En el peso de pierna con muslo, pechuga con hueso y pigmentación amarilla de la piel, con los diferentes tratamientos, los resultados (Cuadro 4), no mostraron diferencias significativas ($P > 0.05$) entre si.

7.1 Experimento 2.

Los resultados promedio obtenidos a los 21 días de experimentación para ganancia de peso, consumo de alimento, índice de conversión y mortalidad, están en el Cuadro 5. Se observa que se detectaron diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.05$), en ganancia de peso (Figura 4), teniendo una mayor ganancia (824g) el tratamiento 2 con 700 ppm, con respecto al testigo (785g). También, se ve efecto positivo en ganancia de peso de las aves entre los tratamientos 3(794g), y 4 (815g) con 1400 y 2100 ppm.

En cuanto a consumo de alimento y conversión alimenticia, no se encontraron efectos significativos ($P > 0.05$), al uso del producto con Glutamina + Ácido Glutámico utilizado en las dietas con diferentes niveles de adición.

En el Cuadro 6, se muestran los resultados obtenidos a los 49 días de de edad de las aves en los parámetros productivos. No se detectaron diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.05$), entre tratamientos en ganancia de peso, consumo, conversión y mortalidad general.

En el caso de rendimiento de la canal y coloración amarilla de la piel de la pechuga a los 49 días de edad de las aves, los resultados se muestran en el Cuadro 7. Se nota que existieron diferencias estadísticas ($P > 0.05$) entre tratamientos en peso de la canal (Figura 5); con mayor peso en las aves de los tratamientos en que a las que se adicionó Glutamina + Ácido Glutámico. Por otra parte, en rendimiento de la pierna con muslo, rendimiento de pechuga con hueso y amarillamiento de la piel en caliente (post-sacrificio); no se detectaron diferencias entre tratamientos. ($P > 0.05$)

El Cuadro 8, muestra los datos de los porcentajes de uniformidad de la parvada (Figura 6) y el coeficiente de variación de los datos obtenidos, los cuales arrojaron diferencias estadísticas ($P < 0.05$) entre tratamientos. Hubo mayor porcentaje de uniformidad de la parvada, en los tratamientos a los que se les adicionó, 700, 1400 y 2800 ppm (Tratamiento 2, 84.2%, 3, 82.3% y 5, 82.5% respectivamente) del producto con Glutamina + Ácido Glutámico, en comparación con los tratamientos 1 (80.0 %) y 4 (79.7%). Los datos de coeficiente de variación, también arrojaron que la variabilidad numérica de los datos fue menor con el producto a base de Glutamina y Ácido Glutámico.

Los datos de medición de longitud de las vellosidades del duodeno, se encuentran en el Cuadro 9, los resultados corresponden a los 35 días de edad de las aves. Se encontraron diferencias significativas ($P < 0.01$) entre tratamientos. El tratamiento 2, mostró mayor altura de las vellosidades intestinales del duodeno (Figura 7), con relación al resto de los tratamientos 1, 3, 4 y 5.

Lo que corresponde a los datos de inmunología; se muestran en el Cuadro 10. Los resultados de inhibición de la hemaglutinación, se tomaron en los días 8, 21 y 35 días. Los datos de los días 21 y 35 de edad de las aves (día 13 y 27 después de la vacunación respectivamente), señalan diferencias ($P < 0.05$) entre tratamientos. En el día 21 de edad (Figura 8), los tratamientos que arrojaron mayores resultados de absorbancia fueron el tratamiento 3 (8.8 Log^2) y 5 (8.9 Log^2), con respecto a los tratamientos 1 (7.9 Log^2), 2 (7.9 Log^2) y 4 (8.1 Log^2). Al igual que en el día 21 de edad, se encontraron diferencias ($P < 0.05$) al día 35 de edad de las aves (Figura 9). Los tratamientos que mostraron una mayor respuesta fueron el 1 (10.6 Log^2), 2 (10.3 Log^2), 3 (10.1 Log^2) y 5 (10 Log^2) con relación al tratamiento 5 (9.6 Log^2) con

El Cuadro 11, indica, los datos promedio que se obtuvieron en la valoración de la respuesta celular, que se llevó a cabo con la prueba de hipersensibilidad tardía basofílica realizada en las aves a los 21 y 35 días de edad (Figuras 10 y 11, respectivamente). Se observó un aumento en el grosor interdigital a la inoculación de la fitoheamaglutinina que resultó significativo ($P < 0.05$), en los tratamiento 2 (0.58mm), 3 (0.56mm), 4 (0.56mm) y 5 (0.56mm), con respecto al tratamiento testigo que no se le adicionó la mezcla de los aminoácidos. En el caso de los resultados obtenidos en la medición del día 35 de edad, se encontró que los tratamientos con la adición de Glutamina y Ácido Glutámico mostraron un grosor interdigital mayor que el tratamiento testigo (0.48mm), ($P < 0.05$). Aunque los tratamientos con el producto son distintos al testigo, existe diferencia entre ellos, teniendo una mayor reacción el tratamiento 2 (0.60mm) con relación a los tratamientos 3 (0.53mm), 4 (0.54mm) y 5 (0.53mm). En el caso de la inoculación con solución salina

fisiológica, no se observaron diferencias estadísticas ($P>0.05$) en las dos mediciones que realizadas a los 21 y 35 días de edad.

Finalmente en el Cuadro 12; están los resultados de la Prueba de ELISA, utilizada para la determinación de IgA Intestinal (Figura 12), los promedios muestran diferencias estadísticas ($P<0.05$), entre tratamientos. Se cuantificó la concentración más alta de IgA intestinal, en el tratamiento 1 (367), siendo este, el tratamiento al cual no se le adicionó a la dieta la mezcla de Glutamina y Ácido Glutámico, las concentraciones del resto de los tratamientos fueron de la siguiente forma; 2 (226), 4 (202), 5 (171) y 3 (157) ng/ml.

8. DISCUSIÓN

En los 2 experimentos que se realizaron y bajo las condiciones empleadas, se pudo observar que el adicionar Glutamina + Ácido Glutámico en dietas para pollo de engorda durante los primeros 21 días de vida, hubo efectos positivos sobre las variables productivas y rendimiento de la canal en el Experimento 2; y al final del ciclo en el peso en el Experimento 1. Esta información coincide con lo obtenido por Miguel et al. (2009), quienes al adicionar 2000 ppm de glutamina + ácido glutámico en dietas basales sorgo + soya, en los primeros 21 días de vida en pollos de la estirpe Cobb 500 y bajo condiciones experimentales similares a las utilizadas en este experimento, encontraron mejora en los datos de ganancia de peso, índice de conversión y rendimiento de la canal a los 49 días de edad. Bartell et al. (2007), adicionaron 1 y 4% de glutamina en dietas para pollos de la estirpe Cobb alojados en jaula en batería; encontraron efecto favorable en ganancia de peso a los 21 días de edad con las aves suplementadas con el 1%, no así con las aves a las que se les adicionó 4%, en donde incluso, se observó efecto tóxico.

Mussini et al. (2012) utilizaron diferentes dosis de glutamina en las dietas para pollos de engorda, encontrando como resultado que los pesos corporales se mejoraban a los 21 y 28 días de edad en las aves que habían sido suplementadas con diferentes dosis de glutamina, concordando con los resultados obtenidos en el Experimento 2, en el que se observó un incremento en el peso de las aves a los 21 días de edad.

Yi et al. (2005) utilizaron 1% de Glutamina en dietas maíz + pasta de soya, con efectos positivos en las aves en los parámetros productivos ganancia de peso y conversión

alimenticia en datos obtenidos a los 14 días de edad, estos datos se asemejan a los obtenidos en este trabajo 2, en donde el tratamiento con 700 ppm de la mezcla comercial de glutamina + ácido glutámico en dietas sorgo + pasta de soya, obtuvo mejor ganancia de peso a los 21 días de edad.

Por otra parte, Murakami et al. (2007), adicionaron 1% de glutamina y Vitamina E de 1 a 14 días de edad; sin embargo, no encontraron diferencia en crecimiento, pero encontraron menor porcentaje de mortalidad en los tratamientos que fueron adicionados con 1% de glutamina y vitamina E a los 7 días de vida.

Por otro lado, Soltan (2009) menciona que adicionar 0.5, 1, 1.5 y 2 % de glutamina, al inicio del experimento no mostró diferencia alguna; sin embargo, fue hasta la tercera semana que se comenzó a ver un efecto favorable en los tratamientos adicionados con glutamina, encontrando diferencias estadísticas ($P > 0.05$) a las 6 semanas en ganancia de peso con el tratamiento que contenía el 1% de glutamina; estos resultados concuerdan en parte con los resultados obtenidos en nuestro Experimento 1, donde no detecto diferencias en la ganancia de peso a los 21 días, pero al final del ciclo sí hubo efecto positivo en el peso de los pollos con 700 ppm de la mezcla glutamina + ácido glutámico. En el Experimento 2, los resultados solo coinciden en forma numérica a los 21 días de edad, entre tratamientos, observándose un aumento en el tratamiento 2 (824), con respecto del tratamiento testigo (785) y el tratamiento 5 (783), pero similar a los resultados de los tratamientos 3 (799) y 4 (815).

Por su parte Miguel et al. (2009) obtuvieron una mayor ganancia de peso y una mejor conversión alimenticia en las aves a las que se les adicionó glutamina (2000 ppm de glutamina + ácido glutámico), estos resultados se asemejan a los encontrados en el Experimento 2, que mostró un incremento en la ganancia de peso y la conversión alimenticia con 700 o más ppm.

La mayoría de los trabajos, utilizaron solo glutamina en la dieta; sin embargo, existen trabajos como el presentado por Pelícia et al., (2013), que utilizaron el producto comercial formado por glutamina + ácido glutámico a razón de 1% en la dieta, adicionado los días 1 al 21 de edad, posteriormente, adicionaron 0.5% del producto hasta el final de la investigación (42 días). Los resultados que obtuvieron fue un aumento entre tratamientos, en el rendimiento de la canal y rendimiento de la pechuga ($P < 0.05$, con resultados similares al que se obtuvo en el Experimento 2 en donde se encontró una mejora con el tratamiento con 700 ppm de glutamina + ácido glutámico; sin embargo en el rendimiento de la pechuga hubo solo una tendencia numérica a mejorar el rendimiento de la pechuga. De igual forma, Miguel et al. (2009), observaron que con la utilización de glutamina + ácido glutámico se mejora en el rendimiento de la canal. Por otra parte Avellaneda et al. (2008) utilizaron la misma mezcla comercial de glutamina + ácido glutámico a razón de 0.5, 1 y 1.5 %, con dos periodos de suplementación (7 y 14 días de edad) en dicha investigación los resultados que obtuvieron, fue mejor peso corporal de las aves a los 25 días de edad en los tratamientos adicionados con glutamina y ácido glutámico, dicho resultado es similar al encontrado en el Experimento 1, en donde los tratamientos con 700, 1400 y 2100 ppm de la mezcla comercial a los 49 días de edad tuvieron mejor

ganancia de peso en el Experimento 1. Otros autores como Lora et al. (2006) que utilizaron la misma mezcla comercial de glutamina + ácido glutámico (0.25, 0.50, 0.75 y 1.0 %), encontraron resultados similares a los antes descritos en el Experimento 1, efecto lineal en ganancia de peso con los tratamientos que contenían la mezcla de los aminoácidos.

Los resultados del Experimento 1, con respecto a la conversión alimenticia, indicaron una mejoría, en el tratamiento al que se le adicionó 700 ppm de la mezcla comercial de glutamina + ácido glutámico; estos datos son semejantes a los que mostraron Avellaneda et al. (2008), con la diferencia que encontraron una mejor conversión alimenticia en el tratamiento al que adicionaron 1.5% y en machos de la estirpe Cobb. En cuanto al mismo parámetro, en el Experimento 2, no se encontró un aumento, aunque se observó un valor numérico mejor en la conversión alimenticia del tratamiento al que se adicionó glutamina + ácido glutámico, con relación al tratamiento testigo.

En cuanto a los resultados encontrados para uniformidad de la parvada, hubo mejorías en el tratamiento con 700 ppm del producto, con respecto al tratamiento testigo, estos resultados son similares a los obtenidos por Lora et al. (2006), quienes encontraron que al adicionar 1 % de la mezcla comercial de glutamina + ácido glutámico mejoraba la uniformidad de la parvada reduciendo de igual forma el coeficiente de variación; la dosis que recomiendan como óptima, fue de 0.8% (8000 ppm), mientras que en la presente investigación los mejores resultados oscilaron entre 700 ppm y 1400 ppm.

Por su parte, los datos que se obtuvieron para el rendimiento de la canal, son parcialmente similares con los obtenidos por Pelícia et al. (2013) quienes encontraron diferencia en el porcentaje de rendimiento de la canal y pierna con muslo, en los tratamientos a los que se adicionó glutamina +ácido glutámico, no así en el caso de rendimiento de la pechuga, en el cual no se encontraron diferencias. El Experimento 2, se encontró diferencia en el peso de la canal, en rendimiento de pierna con muslo y de pechuga; se observó tendencia numérica favorable para mejorar el rendimiento de pierna con muslo y de la pechuga.

Con respecto a la medición de las vellosidades intestinales de duodeno, a los 35 días de edad, la adición de 700 ppm de glutamina + ácido glutámico incrementó la altura de las vellosidades. Estos resultados son similares en parte a los obtenidos por Bartell y Batal (2007) quienes adicionaron 1 y 4 % de glutamina encontrando diferencias en la longitud de las vellosidades intestinales de duodeno de las aves que no fueron suplementados con este aminoácido. Estos efectos se observaron de manera similar en este trabajo, mostrando el beneficio que se obtiene con el crecimiento de las vellosidades. En este sentido, Maiorka et al. (2000) reportaron un incremento significativo a los 7 días de vida en relación a la longitud de las vellosidades intestinales de duodeno al adicionar 1 % de glutamina en la dieta en los primeros 28 días de vida de las aves, más no encontraron diferencias en la medición a los 14 días utilizando machos de la estirpe Cobb. A diferencia del Experimento 2 en que se emplearon pollos mixtos de la estirpe Ross. Estos datos se asemejan también a los obtenidos por Yi et al. (2005) que encontraron respuesta en la longitud de las vellosidades intestinales de duodeno, en la medición del día 7, estos datos

concuerdan con los obtenidos en esta investigación, que detectaron diferencias entre tratamientos en la medición al día 35 de vida de las aves, en el crecimiento de las vellosidades.

Para la determinación de la inmunidad en las aves, Bartell y Batal (2007) hicieron la medición de la respuesta inmune humoral con inmunoglobulinas: IgA e IgG, encontrando diferencias entre tratamientos. En el Experimento 2 la determinación de la inmunidad humoral se hizo de IgA intestinales por medio de la prueba de ELISA, en la cual hubo diferencia ($P < 0.05$), aunque el efecto que se obtuvo fue completamente distinto al que mostraron los autores antes mencionados, ya que la concentración mayor de IgA que se obtuvo, fue mayor en el tratamiento testigo y los valores más bajos fueron de los tratamientos a los que se adicionó en el alimento la mezcla de glutamina + ácido glutámico. Por otro lado Sakamoto et al. (2006) para medir la respuesta inmune de los pollos, llevaron a cabo la prueba de hipersensibilidad cutánea basofílica; encontrando mayor respuesta con picos máximos a las 12 horas post-inoculación y disminución a los 24 horas post-inoculación, estos datos concuerdan con los que se obtuvieron en el Experimento 2, en que los tratamientos con glutamina + ácido glutámico tuvieron una respuesta mayor con respecto del tratamiento testigo. Por su parte también la respuesta inmune humoral medida por los anticuerpos, fue mayor con Vitamina E + 1% de glutamina, en la primera semana de edad. Estos datos son similares a los obtenidos en el Experimento 2, en el cual se obtuvo mayor producción de anticuerpos al día 21 de edad, siendo mayor en los tratamientos en que se adicionó 1400 y 2800 ppm de la mezcla comercial del producto con glutamina y ácido glutámico con respecto del tratamiento

testigo. Para la medición del día 35 de edad se detectaron diferencias entre tratamientos, siendo el tratamiento con 2800 ppm el que produjo la menor cantidad de anticuerpos. En el caso de la medición del día 14 de edad de las aves, no se detectaron diferencias entre tratamientos.

Para la determinación de IgA intestinales que se realizaron en el Experimento 2, no se encontraron estudios en los cuales hayan realizado la prueba de ELISA para poder determinar la cantidad de IgA Intestinales. Lo que se observó fue, que el tratamiento testigo obtuvo la mayor concentración de IgA intestinal, posiblemente debido a que las aves no se desafiaron contra ningún microorganismo patógeno que permitiera a la glutamina y al ácido glutámico, poder actuar para la formación de IgA Intestinales. Cabe señalar que existen pocos estudios en el caso de la utilización de glutamina y ácido glutámico en la dieta de aves, por lo que se sugiere seguir investigando para generar más información al respecto en cuanto a la respuesta inmunológica en diferentes condiciones.

Finalmente en los 2 trabajos realizados en el presente estudio, la mortalidad general estuvo dentro de lo esperado en el Valle de México, lugar donde se localiza el CEIEPAv.

9. CONCLUSIONES

De los resultados obtenidos y bajo las condiciones experimentales empleadas en este estudio, se puede concluir que:

La utilización de 700 ppm de lutamina + ácido glutámico en dietas sorgo + soya, durante los primeros 21 días de edad, mejoró la ganancia de peso ,peso de la canal y el índice de conversión, de pollos de engorda Ross 308 a los 49 días de edad.

La inclusión de 700 ppm glutamina + ácido glutámico (AminoGut®), en dietas sorgo + soya, para pollos de engorda incrementó la uniformidad de la parvada en el peso a los 49 días de edad.

La longitud de las vellosidades intestinales a los 35 días de edad, fue mayor con el uso de 700 ppm glutamina + ácido glutámico en la dieta de pollo de engorda.

El empleo de 700 ppm de glutamina + ácido glutámico, favoreció la respuesta inmune humoral, al aumentar la producción de anticuerpos al día 21 de vida.

700 ppm de la mezcla comercial de glutamina + ácido glutámico, incrementó la respuesta inmune celular de las aves, al desafío de hipersensibilidad cutánea basofílica.

La glutamina + ácido glutámico (Aminogut®) en niveles de 700, 1400, 2100 y 2800 ppm en dietas de los pollos de engorda, no mostró efecto benéfico en la producción de IgA Intestinales.

10. BIBLIOGRAFÍA CITADA

1. Abbas AK y Lichtman HA. 2004. Basic Immunology: Function and disorders of the immune system. SAunders, Philadelphia, 2da edition.
2. Avellaneda Y, Hernandez J, Ariza C y Afanador T. 2008. Efecto de la suplementación de L-Glutamina y L-Ácido Glutámico (aminogut®) sobre el crecimiento temprano de pollos de engorda. Rev. Med. Vet. Zoot.. 55:77-90.
3. Bartell SM, Batal A B. 2007. The Effect of Supplemental Glutamine on Growth Performance, Development of the Gastrointestinal Tract, and Humoral Immune Response of Broilers. Poultry Science 86:1940–1947.
4. Bonet A, Grau T. La glutamina, un aminoácido casi indispensable en el enfermo crítico. Med intensiva, 2007; 31(7):402-406.
5. Buchman A. 2001. Glutamina: Commercially Essential or Conditionally Essential? A critical Appraisal of the Human Data. Am J Clin Nutr:74; 25-32.
6. Calder PC, Field CJ y Gill HS. 2002. Glutamine and the immune Function System In: Nutrition and Immune Function. CAB International. UK. 109-132.
7. Cuca GM, Ávila GE y Pro MA. 2009. Alimentación de las aves. Universidad Autónoma de Chapingo. 8 ed. México. 19-24.
8. Curi R, Lagranha CJ, Doi SQ, Sellitti DF, Procopio TC, Phiton-Curi TC, Corless M y Newsholme P. 2005. Molecular Mechanisms of Glutamine Action. J. Cell. Physiol. 204: 392–401.
9. D’Mello JPF. 2003. Amino Acids in Animal Nutrition. 2da ed. CAB International. pp 1-14.
10. Estrada FE, Peralta ZL, Rivas MP. 1982. Manual de técnicas Histológicas. AGT Editor, Sa, México.
11. FAO. 2013. GIEWS Food Price Data and Analysis tool. <http://www.fao.org/giews/pricetool/>
12. Fearon DT y Locksley RM. 1996. The instructive role of innate immunity in the acquired immune response. Science 272:50-54.
13. Fischer RL, Kitt SJ, Miller PS, Lewis A. 2002. Effects of glutamine on growth performance and small intestine villus height in weanling pigs. Nebraska Swine Rep. Univ. Nebraska, Lincoln. 29–32.

14. Gil HA, 2010. Tratado de Nutrición, Bases fisiológicas y bioquímicas de la nutrición, 2da ed. Editorial medica panamericana. Madrid, España. Pp.355-359.
15. Gómez VG, López CC, Maldonado BC y Ávila GE. 2010. El Sistema Inmune Digestivo en las Aves. Investigación y Ciencia, Vol. 18, núm. 48, Enero-Abril, pp.9-16, Universidad Autónoma de Aguascalientes. México.
16. Guyton CG, Hall JE. 2006. Tratado de fisiología medica. 11ª ed. Elsevier.
17. INEGI. Tlahuac: 1992. Cuaderno de información básica delegacional. México.
18. Leeson S, Summers JD. 2005. Comercial poultry nutrition. 3ª ed. Guelph, Ontario Canadá: University Books.
19. Li P, Yin YL, Li D, Kim SW y Wu G. 2007. Amino acids and immune function. Br J Nutr. Aug; 98(2):237-52.
20. Lopes DC y Rostagno HS. 2007. Glutamina en la Nutrición de los lechones. PorkWorld. Especial Ajinomoto. pp 13-14.
21. Lora AG, Albino LFT, Rostagno HS, Messias RKG. 2006. Níveis de inclusão de AminoGut® em rações para frangos de corte. Anais da Conferência APINCO de Ciência e Tecnologia Avícolas; São Paulo. Brasil.
22. Makc S, Hoffmann D y Otte J. 2005. The contribution of poultry to rural development. Wld's Poult. Sci. J. 61: 7-14.
23. Maiorka A, Silva AVF, Santin E, Borges SA, Boleli IC y Macari M. 2000. Influence of glutamine supplementation on performance and intestinal villous and crypt development in broiler chickens. Arq. Bras. Med. Vet. Zootec. vol.52 n.5 Belo Horizonte.
24. Manso HECCC, Manso Filho HC, de Carvalho LE, Kutschenko M, Nogueira ET y Watford M. 2012. Glutamine and glutamate supplementation raise milk glutamine concentrations in lactating gilts. J Anim Sci Biotechnol. Feb 28:3.
25. Mayer L. 2003. Mucosal Immunity. Pediatrics. 111: 1595-1600.
26. Miguel IJ, Cortes CA y Ávila GE. 2009. Evaluación de la mezcla de diferentes niveles de glutamina en dietas sorgo- soya para pollos de engorda. Tesis de licenciatura, FMVZ-UNAM, México D,F.
27. Molino JP. Donzele JL. Oliveira RFM. et al. 2012. L-glutamine and L-glutamate in diets with different lactose levels for piglets weaned at 21 days of age. Revista Brasileira de Zootecnia, Viçosa, MG, v.41, n.1, p.98-105.

28. Morales LB. 2013. El uso de ácidos orgánicos en dietas para gallina, efecto en el pH intestinal, rendimiento productivo, tiempo de transito e integridad intestinal. (Tesis de maestría). México (D.F.) UNAM.
29. Murakami AE, Sakamoto MI. 2007. Supplementation of glutamine and vitamin E on the morphometry of the intestinal mucosa in broiler chickens. *Poultry science* 86; 488-495.
30. Mussini FJ, Goodgame SD, Lu C, Bradley CD, Fiscus SM y Waldroup PW. 2012. A Nutritional Approach to the Use of Anticoccidial Vaccines in Broilers: Glutamine Utilization in Critical Stages of Immunity Acquisition. *Int. J. Poult. Sci.*, 11 (4): 243-246.
31. Nelson LD, Cox MM. 2005. Principios de Bioquímica. 4ta ed. Omega. Pp 111-113.
32. Newsholme P. 2001. Why is L-Glutamine Metabolism Important to Cells of the Immune System in Health, Postinjury, Surgery or Infection?. *J. Nutr.* 131: 2515S-2522S.
33. Newsholme P, Lima MMR, Procopio J, Pithon-Curi TC, Doi SQ, Bazotte RB, et al. 2003. Glutamine and Glutamate as Vital Metabolites. *Braz J Med Biol Res*, 36 (2): 153-163.
34. Norma Oficial Mexicana, NOM-033-ZOO-1995, Sacrificio humanitario de las aves. <http://www.senasica.gob.mx/?doc=529>.
35. Olivares SE. 1994. Paquete estadístico de diseños experimentales. FAUANL. Versión 2.5. Facultad de Agronomía. Universidad Autónoma de Nuevo León.
36. Pelícia VCI, Stradiotti AC, Araujo PC de, Maruno MK, Carvalho FB de, Pezzato AC y Sartori JR. 2013. Phytogenic Additives and Glutamine Plus Glutamic Acid in Broiler Diets. *Rev. Bras. Cienc. Avic.* vol.15 no.4 Campinas Dec. Pp 295-300.
37. Quintana JA. 2011. Avitecnia. Manejo de las Aves Domésticas más comunes. 4ª ed. México. Trillas.
38. Remillard RL, Guerino F, Dudgeon DL y Yardley JH. 1998. Intravenous Glutamine or Limited Enteral Feedings in Piglets: Amelioration of Small Intestinal Disuse Atrophy *J. Nutr.* 128: 2723–2726.
39. Reeds PJ, Burrin DG, Stoll B y Jahoor F. 2000. Intestinal Glutamate Metabolism. *J. Nutr.* 130: 978–982.
40. Roth E. 2008. Nonnutritive Effects of Glutamine. *J. Nutr.* 138: 2025–2031.

41. Sakamoto MI, Murakami AE, Silveira TGV, Fernandes JIM y Oliveira CAL. 2006. Influence of glutamine and vitamin E on the performance and the immune responses of broiler chickens. Rev. Bras. Cienc. Avic. vol.8 no.4 Campinas Oct./Dec.
42. Self JT, Spencer TE, Johnson GA, Hu JB, Bazer FW y Wu G. 2004. Glutamine synthesis in the developing porcine placenta. Biol Reprod 70, 1444-1451.
43. Silva AVF, Moiorca A, Borges SA, Santin E, Boleli IC, Macari M. Surface Area of the Enterocytes in Small Intestine Mucosa of Broilers Submitted to Early Feed Restriction and Supplemented with glutamine. Poultry science. 2007. 6:31-35.
44. Soltan MA. 2009. Influence of Dietary Glutamine Supplementation on Growth Performance, Small Intestinal Morphology, Immune Response and Some Blood Parameters of Broiler Chickens. International Journal of Poultry Science 8 (1): 60-68.
45. Souba WW. 1993. Glutamine and Cancer. Ann Surg. Dec ; 218(6): 715–728.
46. Tavernari F, Salguero S, Albino LFT y Rostagno H. 2008. Nutrición, Patología y Fisiología Digestiva en Pollos: Aspectos críticos. XXIV Curso de Especialización FEDNA. Madrid, España. 31-45.
47. Unión Nacional de Avicultores. Compendio de indicadores económicos, UNA. México 2013.
48. Villarino N y Melo J. 2012. Utilización de aminoácidos condicionalmente esenciales en dietas iniciales de aves: Glutamina y ácido glutámico. Publicado el 7 de Agosto del 2012.
<http://www.engormix.com/MA-avicultura/nutricion/articulos/utilizacion-aminoacidos-condicionalmente-esenciales-t4362/141-p0.htm>.
49. Watford M, Kutschenko M, Nogueira TE. 2011. Optimal dietary glutamine for growth and development. R. Bras Zootc. V.40. p 384-390.
50. Watford M. 2012. Glutamate and Glutamine: Nonessential Amino Acids. V Congreso CLANA. Puerto Vallarta. Jalisco. México.
51. Wu G, Knabe DA, Yan W, and Flynn NE, 1995. Glutamine and glucose metabolism in enterocytes of the neonatal pig. Am. J. Physiol. 37:R334-R342.
52. Wu G y Morris SM. 1998. Arginine metabolism: nitric oxide and beyond. Biochem. J. 336, 1–17.

53. Yi GF, Carroll JA, Allee GL, Gaines AM, Kendall DC, Usry JL, *et al.* 2004. Effect of glutamine and spray-dried plasma on growth performance, small intestinal morphology, and immune responses of *Escherichia coli* K88+-challenged weaned pigs^{1, 2}. *J Anim. Sci.* 83:634–643.
54. Yi GF, Alle GL, Knigth CD, Dibnert JJ. 2005. Impact of Glutamine and Oasis Hatchling Supplement on Growth Performance, Small Intestinal Morphology, and Immune Response of Broilers Vaccinated and Challenged with *Eimeria maxima*. *Poultry science* 84; 283-293.

11. CUADROS

Cuadro 1. Composición de las dietas experimentales de iniciación, crecimiento y finalización empleadas en los Experimentos 1 y 2.

| Ingredientes | Iniciador (Kg) | Crecimiento (Kg) | Finalización (Kg) |
|-------------------------------|---------------------------|-----------------------------|------------------------------|
| Sorgo | 502.483 | 565.827 | 626.560 |
| Pasta de Soya | 406.842 | 331.782 | 275.553 |
| Aceite Vegetal | 41.494 | 57.388 | 54.170 |
| Fosfato de Calcio | 18.413 | 16.329 | 15.150 |
| Carbonato de Calcio | 15.267 | 13.897 | 13.388 |
| Sal | 3.814 | 3.837 | 3.848 |
| DL-Metionina | 3.471 | 2.929 | 2.048 |
| Cloruro de Colina 60% | 3.400 | 3.400 | 0.800 |
| L-Lisina HCl | 1.788 | 1.625 | 0.661 |
| Premezcla de Vitaminas* | 1.000 | 1.000 | 1.000 |
| Premezcla de Minerales** | 0.500 | 0.500 | 0.500 |
| L-Treonina | 0.587 | 0.473 | 0.042 |
| Coccidiostato*** | 0.500 | 0.500 | 0.500 |
| Bacitracina | 0.300 | 0.300 | 0.300 |
| Antioxidante | 0.150 | 0.150 | 0.150 |
| Pigmento amarillo Tagetes | 0.000 | 0.000 | 5.330 |
| Total | 1000 | 1000 | 1000 |
| Composición Química | | | |
| Energía Metabolizable kcal/kg | 3010 | 3175 | 3225 |
| Proteína Cruda % | 24.00 | 21.00 | 19.00 |
| Met + Cis % | 1.059 | 0.925 | 0.785 |
| Lisina % | 1.435 | 1.217 | 0.998 |
| Treonina % | 0.968 | 0.834 | 0.709 |
| Triptofano % | 0.315 | 0.272 | 0.243 |
| Calcio % | 1.000 | 0.900 | 0.850 |
| Fosforo Disp. % | 0.500 | 0.450 | 0.420 |
| Sodio % | 0.160 | 0.160 | 0.160 |

*Proporciona por Kg. Vitamina A 12, 000,000 UI; Vitamina D3 2, 500,00 UI; Vitamina E 15,000 UI; Vitamina K 2.0g; Tiamina 2.25g; Riboflavina 7.5g; Cianocobalamina 0.010 g; Ácido Fólico 1.5g; Piridoxina 1.5g; Pantotenato de calcio 10g; Niacina 45g.

**Proporciona por Kg. Selenio ,0.2g; Cobalto 0.2g; Yodo 0.3g; Cobre 10g; Zinc 50g; Hierro 100g; Manganeso 110g; excipiente cbp1000g.

*** Nicarbazina durante iniciación y crecimiento; monensina durante finalización.

Cuadro 2. Variables productivas de pollitos de 0- 21 días. Experimento 1.

| Tratamiento Gln/Glu (ppm) | Ganancia de Peso (g) | Consumo de Alimento (g) | IC kg:kg |
|---------------------------------------|-------------------------------------|--|---------------------|
| 0 | 705a | 975a | 1.38a |
| 700 | 685a | 960a | 1.40a |
| 1400 | 696a | 962a | 1.38a |
| 2100 | 683a | 967a | 1.42a |
| 2800 | 699a | 968a | 1.38a |

Valores con la misma literal son similares ($P>0.05$).

Cuadro 3 Variables productivas de pollitos de 0- 49 días. Experimento 1.

| Tratamiento ppm Gln/Glu | Ganancia de peso (g) | Consumo de Alimento (g) | IC kg:kg | Mortalidad general % |
|------------------------------------|-------------------------------------|--|---------------------|-------------------------------------|
| 0 | 2903b | 5684b | 1.96b | 10.6a |
| 700 | 3267a | 5944a | 1.82a | 9.0a |
| 1400 | 3047b | 5780b | 1.90ab | 10.5a |
| 2100 | 3017b | 5884b | 1.95ab | 10.0a |
| 2800 | 2988b | 5687b | 1.90ab | 8.5a |

Valores con distinta letra para cada variable son diferentes ($P<0.05$).

Cuadro 4. Rendimiento de las canales y pigmentación amarilla de la piel a los 49 días de edad en pollos. Experimento 1.

| Tratamiento ppm Gln/Glu | PESO CANAL (g) | PIERNA Y MUSLO (g) | PECHUGA (g) | AMARILLAMIENTO (b*) |
|-------------------------|----------------|--------------------|-------------|---------------------|
| 0 | 2008b | 878a | 1171a | 48a |
| 700 | 2375a | 938a | 1250a | 50a |
| 1400 | 2254ab | 919a | 1186a | 46a |
| 2100 | 2250ab | 900a | 1170a | 48a |
| 2800 | 2159b | 900a | 1200a | 51a |

Valores con distinta letra para cada variable son diferentes (P<0.05).

Cuadro 5. Datos promedio en pollos de 0- 21 días de edad. Experimento 2.

| Tratamiento Gln/Glu (ppm) | Ganancia de Peso (g) | Consumo de Alimento (g) | IC kg:kg |
|----------------------------|----------------------|-------------------------|----------|
| 0 | 785c | 1081a | 1.38a |
| 700 | 824a | 1150a | 1.40a |
| 1400 | 799abc | 1111a | 1.39a |
| 2100 | 815ab | 1127a | 1.38a |
| 2800 | 783bc | 1082a | 1.38a |

Valores con distinta letra para cada variable son diferentes (P<0.05).

Cuadro 6. Comportamiento productivo de pollos de 0- 49 días. Experimento 2.

| Tratamiento ppm Gln/Glu | Ganancia de peso (g) | Consumo de Alimento (g) | IC kg:kg | Mortalidad % |
|----------------------------|----------------------------|-------------------------------|-------------|-----------------|
| 0 | 3026a | 5908a | 1.95a | 9.2a |
| 700 | 3043a | 5889a | 1.93a | 9.8a |
| 1400 | 3046a | 5878a | 1.93a | 11.1a |
| 2100 | 3046a | 5831a | 1.91a | 10.9a |
| 2800 | 3058a | 5937a | 1.94a | 8.7a |

Valores con la misma literal son similares ($P>0.05$).

Cuadro 7. Rendimiento de la canal y coloración de la piel de pollos de 49 días de edad. Experimento 2.

| Tratamiento ppm Gln/Glu | PESO CANAL (g) | PIERNA Y MUSLO (g) | PECHUGA (g) | AMARILLAMIENTO (b*) |
|----------------------------|-------------------|--------------------------|----------------|------------------------|
| 0 | 2117c | 669a | 848a | 46a |
| 700 | 2191bc | 673a | 858a | 47a |
| 1400 | 2223ab | 683a | 864a | 48a |
| 2100 | 2255ab | 684a | 861a | 48a |
| 2800 | 2295a | 699a | 911a | 50a |

Valores con distinta letra para cada variable son diferentes ($P<0.05$).

Cuadro 8. Uniformidad de la parvada de pollo de engorda a los 49 días de edad en el Experimento 2.

| Tratamiento ppm Gln/Glu | UNIFORMIDAD % | CV |
|------------------------------------|--------------------------|-----------|
| 0 | 80.0c | 8.3a |
| 700 | 84.2a | 7.4a |
| 1400 | 82.3b | 7.9a |
| 2100 | 79.7c | 8.1a |
| 2800 | 82.5ab | 7.7a |

Valores con distinta letra para cada variable son diferentes (P<0.05).

Cuadro 9. Longitud de las vellosidades intestinales (μm) en duodeno de pollos de 35 días de edad. Experimento 2.

| TRATAMIENTO ppm Gln/Glu | Longitud vellosidades intestinales (μm) |
|------------------------------------|--|
| 0 | 2103b |
| 700 | 2534a |
| 1400 | 2070b |
| 2100 | 2198b |
| 2800 | 2240b |

Valores con distinta letra para cada variable son diferentes (P<0.05).

Cuadro 10. Resultados promedio de absorbancia en la Prueba de Inhibición de la Hemoaglutinación (Log₂) en los días 14,21 y 28 días de edad en el experimento 2.

| Tratamiento ppm Gln/Glu | Día 14 Log ² | Día 21 Log ² | Día 35 Log ² |
|----------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
| 0 | 6.1a | 7.9b | 10.6a |
| 700 | 6.2a | 7.9b | 10.3a |
| 1400 | 6.2a | 8.8a | 10.1a |
| 2100 | 6.2a | 8.1b | 10a |
| 2800 | 6.1a | 8.9a | 9.6a |

Valores con distinta letra para cada variable son diferentes (P<0.05).

Cuadro 11. Resultados de la prueba de hipersensibilidad tardía en los días 21 y 35 de edad en el Experimento 2. (PHA=Fitohemaglutinina y SS= Solución Salina Estéril).

| Tratamiento ppm Gln/Glu | PHA día 21 mm | SS día 21 mm | PHA día 35 mm | SS día 35 mm |
|----------------------------|------------------|-----------------|------------------|-----------------|
| 0 | 0.48b | 0.16a | 0.48c | 0.14a |
| 700 | 0.58a | 0.20a | 0.60a | 0.13a |
| 1400 | 0.56a | 0.15a | 0.53b | 0.14a |
| 2100 | 0.56a | 0.15a | 0.54b | 0.18a |
| 2800 | 0.56a | 0.15a | 0.53b | 0.11a |

Valores con distinta letra para cada variable son diferentes (P<0.05).

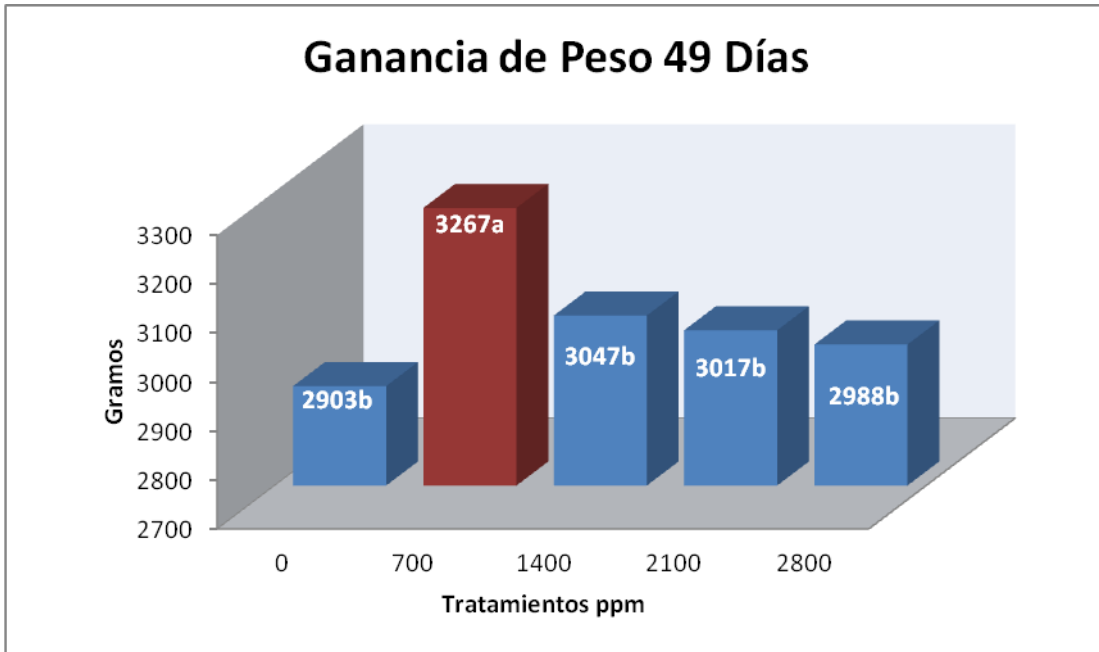
Cuadro 12. Resultados de la prueba de ELISA, para la determinación de IgA Intestinales. Experimento 2.

| Tratamiento ppm Gln/Glu | Concentración de IgA. ng/ml |
|------------------------------------|--|
| 0 | 367a |
| 700 | 226b |
| 1400 | 157e |
| 2100 | 202c |
| 2800 | 171d |

Valores con distinta letra para cada variable son diferentes (P<0.05).

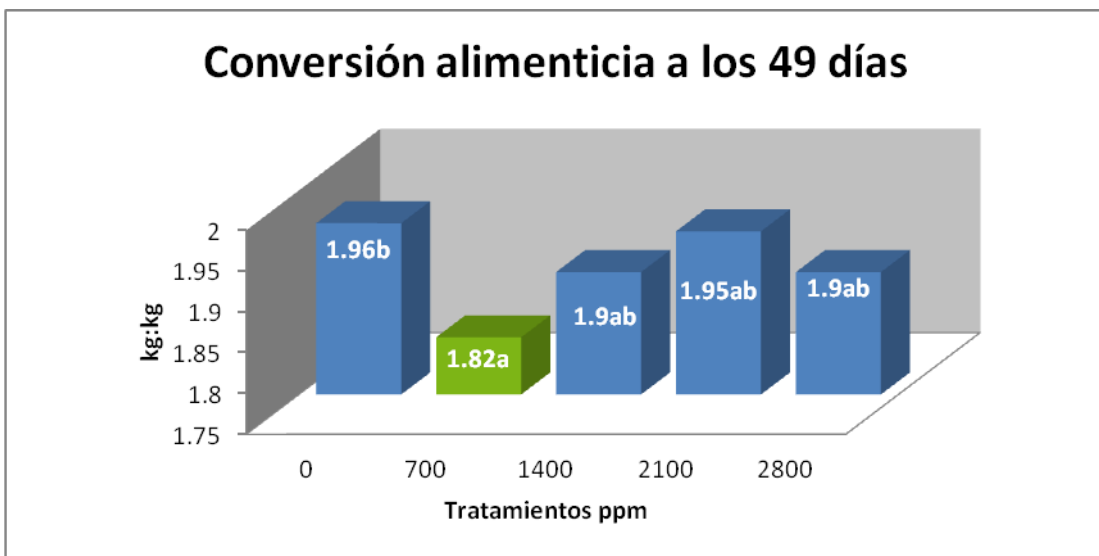
12. FIGURAS

Figura 1. Datos promedio de ganancia de peso a los 49 días (g) Experimento 1.



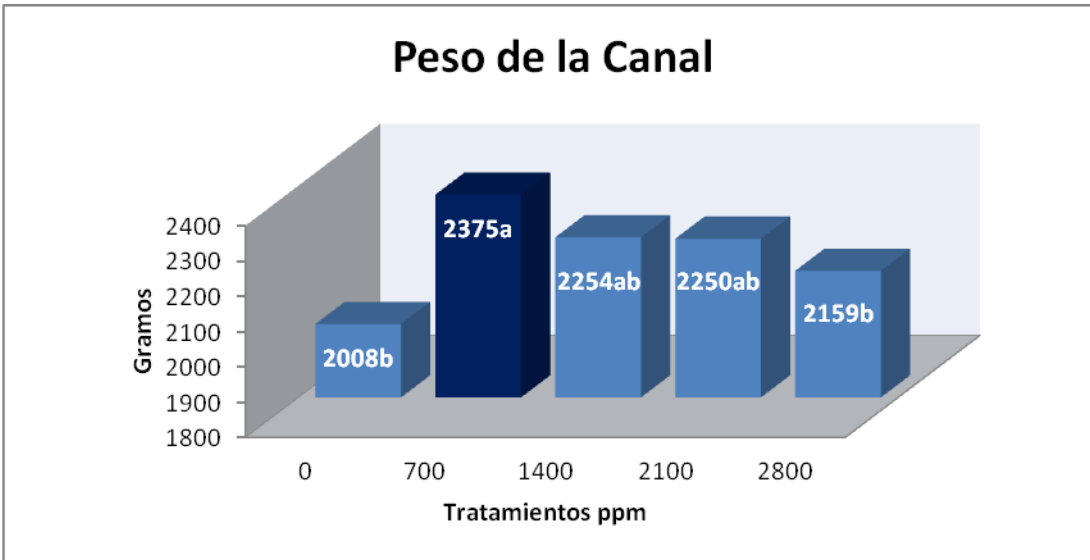
Valores con distinta literal son diferentes ($P < 0.05$).

Figura 2. Resultados promedio de conversión alimenticia a los 49 días (kg:Kg) Experimento



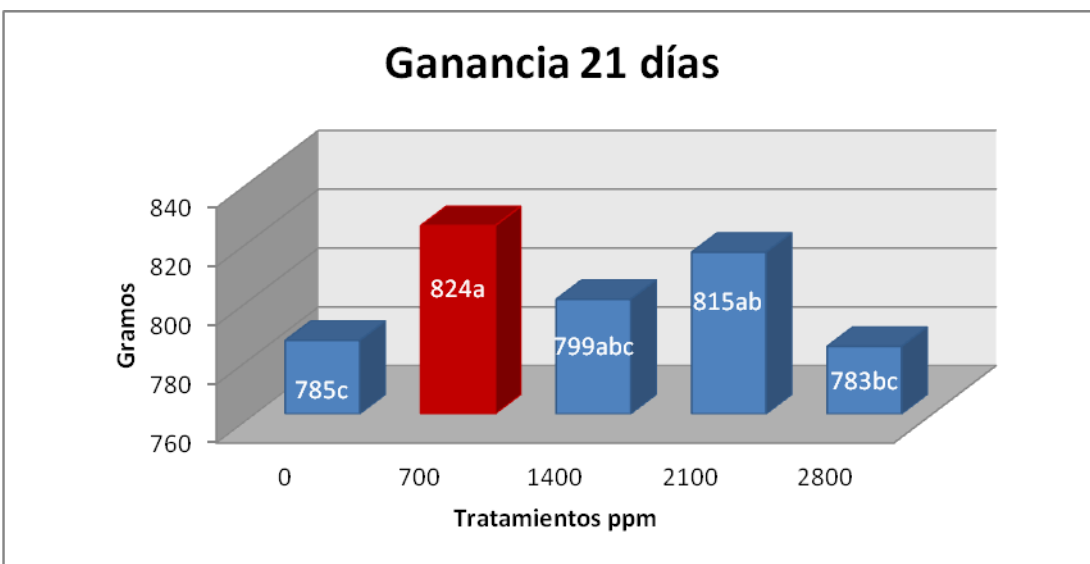
Valores con distinta literal son diferentes ($P < 0.05$).

Figura 3. Datos promedio de peso de la canal (g) Experimento 1.



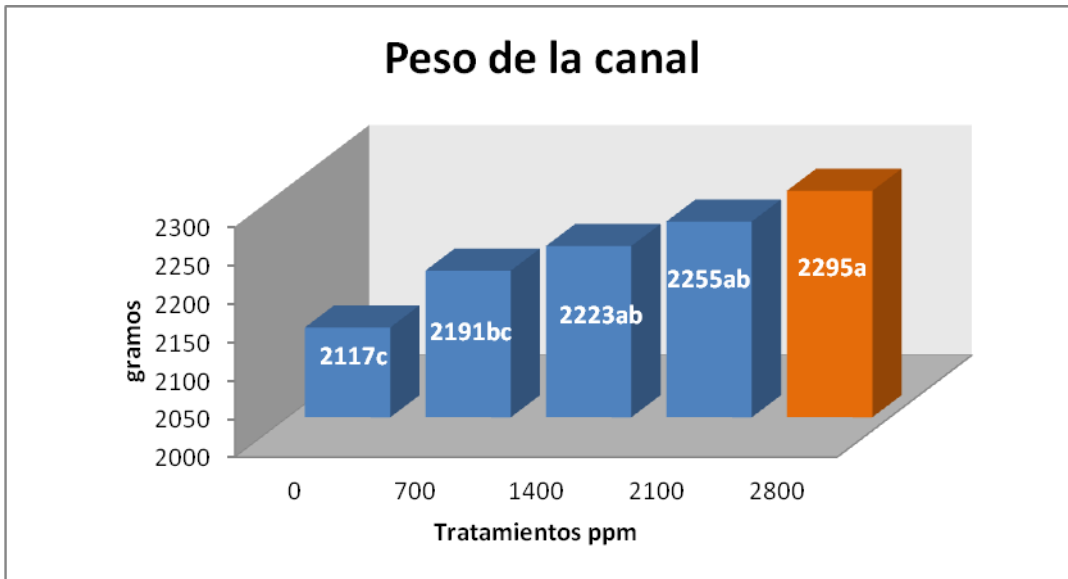
Valores con distinta literal son diferentes ($P < 0.05$).

Figura 4. Ganancia de peso a los 21 días en el Experimento 2.



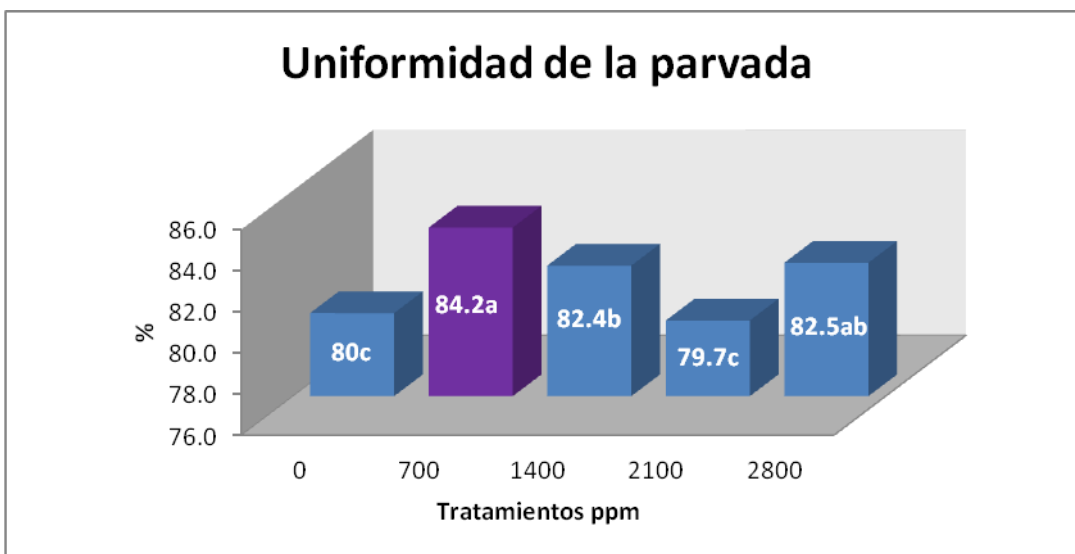
Valores con distinta literal son diferentes ($P < 0.05$).

Figura 5. Datos promedio de peso de la canal (g) Experimento 2.



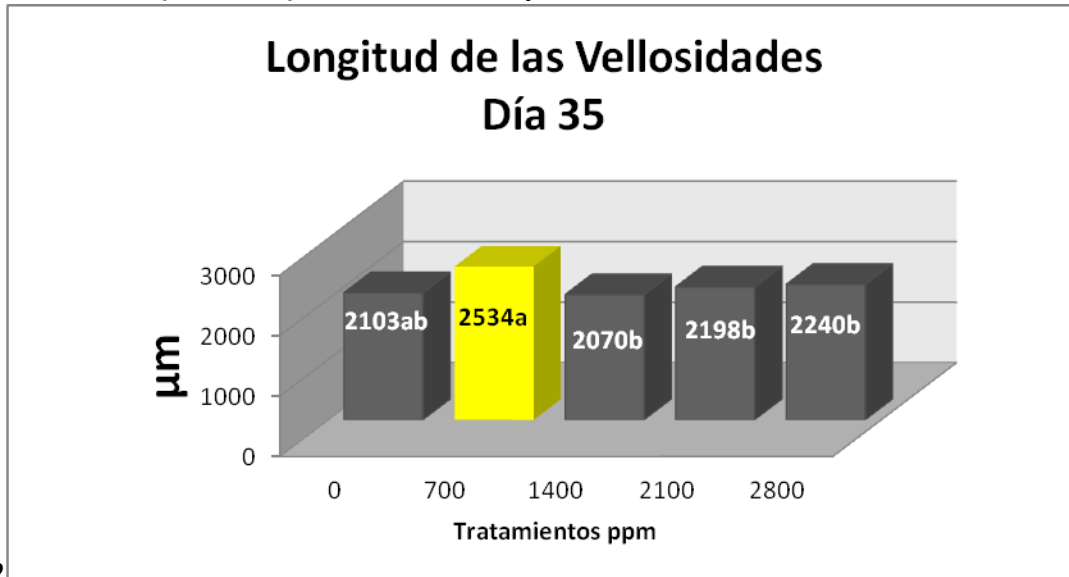
Valores con distinta literal son diferentes ($P < 0.05$).

Figura 6. Resultados promedio de uniformidad de la parvada en porcentaje (%) en el Experimento 2.



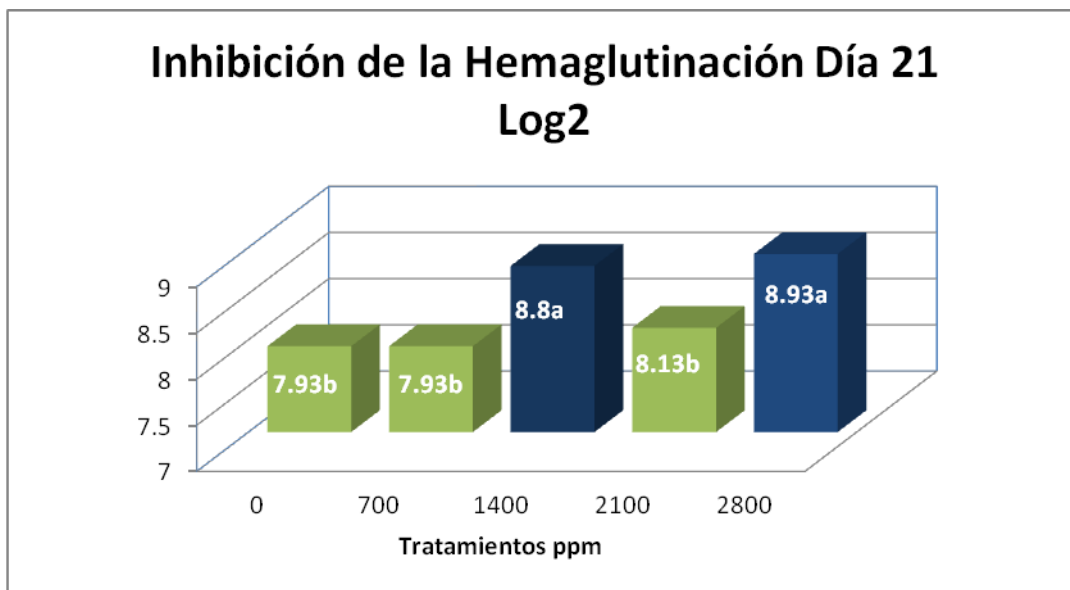
Valores con distinta literal son diferentes ($P < 0.05$).

Figura 7: Resultados promedio de la medición de la altura de las vellosidades Intestinales (duodeno) al día 35 en el Experimento



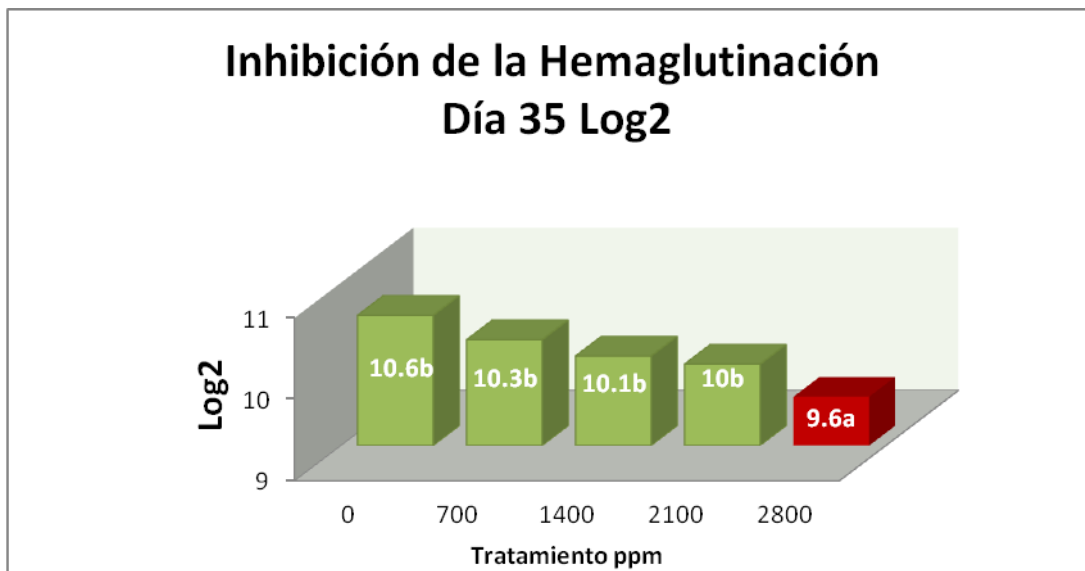
2
Valores con distinta literal son diferentes ($P < 0.01$).

Figura 8. Resultados promedio de absorbancia de la prueba de inhibición de la hemaglutinación (Log^2) a los 21 días de edad en el Experimento 2.



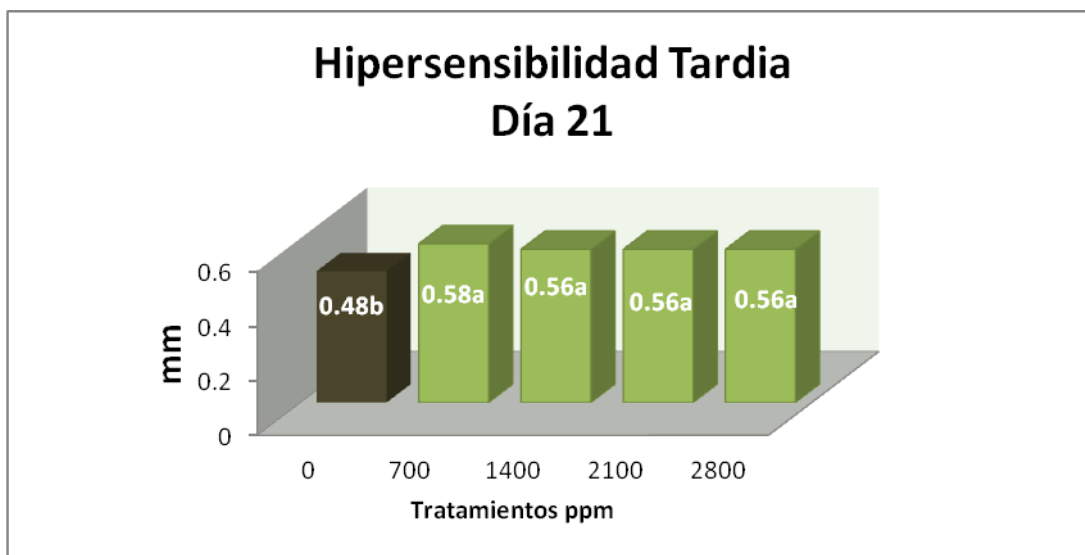
Valores con distinta literal son diferentes ($P < 0.05$).

Figura 9. Resultados promedio de absorbancia de la prueba de inhibición de la hemaglutinación (Log^2) a los 35 días de edad en el Experimento 2.



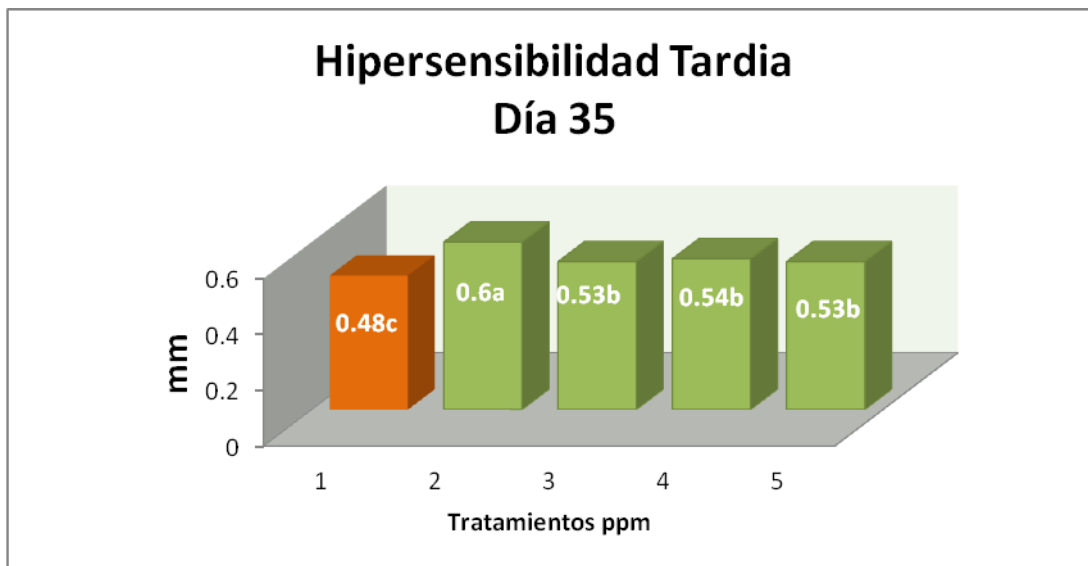
Valores con distinta literal son diferentes ($P < 0.05$).

Figura 10. Resultados de grosor interdigital de la prueba de Hipersensibilidad tardía a los 21 días de edad (mm) en el Experimento 2.



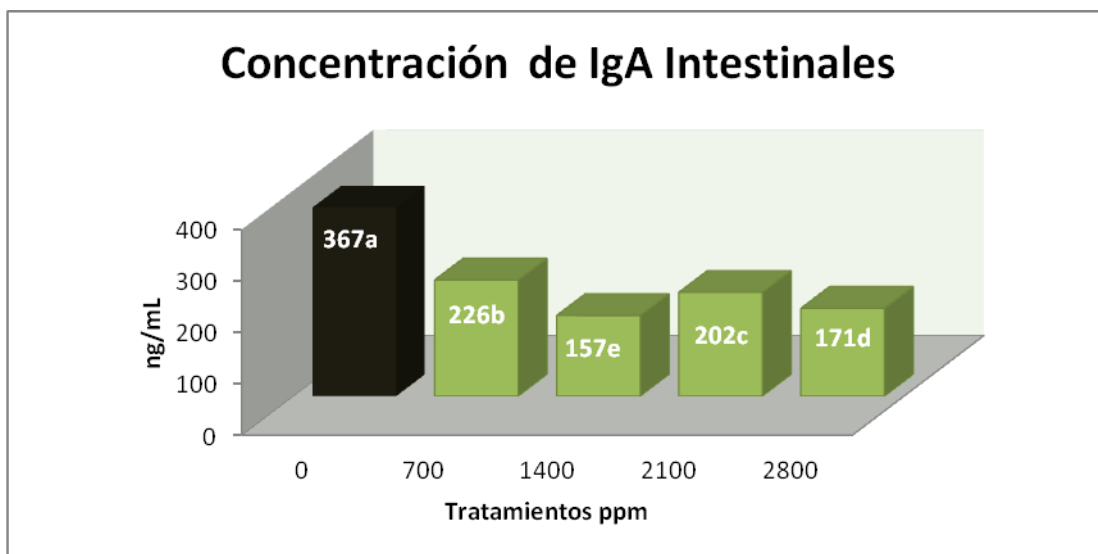
Valores con distinta literal son diferentes ($P < 0.05$).

Figura 11. Resultados de la prueba de Hipersensibilidad tardía a los 35 días de edad (mm) en el Experimento 2.



Valores con distinta literal son diferentes ($P < 0.05$).

Figura 12. Resultados promedio de la prueba de ELISA para la determinación de la concentración de IgA intestinales (ng/mL) Experimento 2.



Valores con distinta literal son diferentes ($P < 0.05$).