



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO**

**MAESTRÍA EN CIENCIAS DE LA PRODUCCIÓN Y DE
LA SALUD ANIMAL**

NUTRICIÓN ANIMAL

UTILIZACIÓN DE LA INULINA Y GLUTAMINA MÁS GLUTAMATO EN DIETAS PARA
POLLOS DE 1 A 21 DÍAS DE EDAD: UNA ALTERNATIVA EN EL USO DE LOS
ANTIBIÓTICOS PROMOTORES DE CRECIMIENTO

T E S I S

PARA OPTAR POR EL GRADO DE MAESTRO EN CIENCIAS

P R E S E N T A:

JOSÉ GUADALUPE CRUZ PÉREZ

TUTOR

ANTONIO DÍAZ CRUZ

UNAM-FMVZ, DEPARTAMENTO DE NUTRICIÓN ANIMAL Y BIOQUÍMICA

COMITÉ TUTORAL

DR. ERNESTO ÁVILA GONZÁLEZ

**UNAM-FMVZ, CENTRO DE ENSEÑANZA, INVESTIGACIÓN Y EXTENSIÓN EN
PRODUCCIÓN AVÍCOLA**

DR. ARTURO PRO MARTÍNEZ

COLEGIO DE POSTGRADUADOS CAMPUS MONTECILLO

MÉXICO, D.F. OCTUBRE 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.

RECONOCIMIENTOS

Esta tesis de maestría se realizó bajo la dirección del Dr. Antonio Díaz Cruz, en el Departamento de Nutrición Animal y Bioquímica de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México.

El Comité Tutorial que asesoró el desarrollo de esta tesis estuvo formado por:

Dr. Antonio Díaz Cruz	Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM.
Dr. Ernesto Ávila González	Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM.
Dr. Arturo Pro Martínez	Colegio de Postgraduados, Texcoco, México.

Se reconoce la asesoría y apoyo técnico de la Dra. Gabriela G. Gómez Verduzco en la realización de las técnicas aplicadas de laboratorio para este proyecto.

Se reconoce la asesoría técnica del Dr. Jorge Hernández en la realización de las técnicas aplicadas de laboratorio para este proyecto.

Se reconoce la asesoría técnica al M.C. MVZ. Susana Zárate en la realización del diseño estadístico de este proyecto de investigación.

Se reconoce la asesoría técnica al M.C. MVZ. Juan José Flores Malpica en la realización de las técnicas aplicadas de laboratorio en este proyecto.

Se reconoce la asesoría al M.C. MVZ. Cuauhtémoc Nava Cuéllar en el apoyo brindado en el laboratorio de Bioquímica, FMVZ durante este proyecto. El proyecto financiado por PAPIIT-UNAM: IT222611.

Durante los estudios de maestría gocé de una beca otorgada por CONACYT para la realización de la presente tesis.

Esta tesis fue defendida en examen presentado el mes de Julio del año 2014.

El Jurado de Examen de maestría estuvo constituido por:

Presidente	Dr. Juan Carlos del Río García	FES Cuautitlán, Estado de México, UNAM.
Secretario	Dr. Antonio Díaz Cruz	Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia.
Vocal	Dr. Gabriela Guadalupe Gómez Verduzco	Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia.
Suplente	Dra. Zoila Irma Tejada Castañeda	INIFAP, México
Suplente	Dr. Mariano de Jesús González Alcorta	Colegio de Postgraduados, Texcoco, México.

DEDICATORIA

Gracias,

Porque siempre has estado ahí, porque siempre has caminado conmigo, por las fuerzas que me has dado en momentos difíciles, por las alegrías y las tristezas, por el aprendizaje obtenido, por las pruebas que hubo, por mi familia, por los amigos, por mis maestros y personas valiosas que pusiste en mi camino durante este proceso, te estoy infinitamente agradecido y éste trabajo ésta completamente dedicado a ti... Gracias Dios.

Gracias a mi familia,

Papá y mamá, no hay frases ni palabras para agradecer todo el amor y sabiduría que me dieron, porque sé que vivieron junto conmigo los desvelos, las preocupaciones, mis triunfos y fracasos, las tristezas y alegrías, gracias por su confianza y apoyo incondicional para poder terminar este proceso, éste trabajo va dedicado a ustedes.

A mis Hermanos y sobrinos,

Me siento afortunado de haber nacido en esta familia, gracias a todos ustedes por estar a conmigo en las buenas y en las malas, porque alegran mi vida, les quiero decir que siempre han sido mi motivación para seguir adelante y este trabajo va dedicado a ustedes.

A mis amigos,

Doy gracias a la vida por haber encontrado a muchas personas valiosas en mi vida, gracias a todos ustedes que me acompañaron y vivieron conmigo lágrimas, tristezas, risas, alegrías y muchas cosas más. Quiero decirles que siempre estarán en mi corazón, hoy estoy convencido de que cada uno de ustedes llegó a mi vida en el momento adecuado, nuevamente muchas gracias y este trabajo también va dedicado a todos ustedes.

RESUMEN

Los agentes antimicrobianos se utilizan en concentraciones subterapéuticas para mejorar los parámetros productivos del animal. La adición de niveles bajos de antibióticos en la alimentación de las aves ha sido una práctica habitual en la industria avícola, ya que proporciona un aumento del 1 al 5% en la ganancia de peso y mejora el índice de conversión. Sin embargo, una preocupación a nivel internacional y que se relaciona con el uso de antibióticos como promotores de crecimiento en las aves, es el desarrollo de una elevada tolerancia a los antibióticos, generada por las bacterias entéricas de estos animales y no tanto, por la presencia de residuos tóxicos en ellas. Esta resistencia bacteriana, por un lado, pueden dar lugar a fallas en el tratamiento terapéutico veterinario y por otro, incrementar el riesgo de transferencia de bacterias resistentes a antibióticos de los animales al hombre. El objetivo de este estudio fue evaluar las posibles ventajas de la Inulina (INU) y la Glutamina más Glutamato (Gln-GLu) adicionados en la dieta para pollitos de engorda de 1 a 21 días de edad, con respecto al empleo de un antibiótico (Bacitracina) como promotor de crecimiento (APC), sobre la actividad de las enzimas disacaridasas (sacarasa y maltasa), la longitud de las microvellosidades intestinales y algunos indicadores productivos del ave. Se emplearon 300 pollos de engorda Ross machos de 1 a 21 días de edad. Las dietas fueron formuladas con base sorgo-soya en donde se incluyó INU vegetal (0.5%), AminoGut® al 0.5% (Gln-Glu) en la dieta. El tiempo de muestreo para la actividad de las enzimas sacarasa, maltasa y parámetros productivos se realizó a los 7, 14 y 21 días; la medición de la altura de las microvellosidades fue en los días 7 y 21. Los datos fueron analizados de acuerdo a un diseño completamente al azar; análisis de varianza ($P < 0.05$) y prueba de comparaciones múltiples Tukey. No se registró diferencia significativa entre tratamientos en cuanto a ganancia de peso y conversión alimenticia a los 21 días. Con respecto a la actividad de las enzimas disacaridasas, solo la actividad de la maltasa fue significativamente mayor ($P < 0.05$), a los 21 días, en respuesta a la mezcla INU+Gln-Glu; no se registró actividad significativa de la enzima sacarasa durante el experimento. La altura de las microvellosidades fue mayor en las aves del tratamiento que recibió Gln-Glu y las aves que mostraron menor tamaño fueron las del tratamiento que recibió antibiótico promotor de crecimiento ($P < 0.05$). La sustitución de bacitracina por INU y/o INU+Gln-Glu en dietas para pollos de engorda hasta los 21 días, no afectó los parámetros productivos. Proyecto financiado por PAPIIT-UNAM: IT222611.

ABSTRACT

Antimicrobial agents are used at subtherapeutic levels to improve animal growth performance. The addition of low levels of antibiotics in poultry feed has been a common practice in the poultry industry, that provides an increase of 1 to 5% of weight gain and improves feed conversion. However, there is an international concern, which relates the use of antibiotics as a growth promoter in poultry, due to the development of a bacterial resistance produced by enteric bacteria of these animals, rather than the presence of toxic residues by itself. This bacterial resistance, can lead to a failure in the therapeutic treatments and increase the risk of transfer of antibiotic-resistant bacteria from animals to humans. The aim of this study was to evaluate the possible benefits of inulin (INU) and Glutamine plus Glutamate (Gln-Glu) added to the diet of broiler chickens from 1 to 21 days old, in comparison of the use of an antibiotic (Bacitracin) as a growth promoter (APC), in relation to the enzyme activity of disaccharidases (saccharase and maltase), the length of the intestinal microvilli as well as some productive indicators. Three hundred males Ross broiler chickens from 1 to 21 days old were used. Diets were formulated based on sorghum-soybean, where Inulin vegetal (INU) 0.5 % and AminoGut® 0.5% (Gln - Glu) was included in the diet. The sampling period for the enzymes activity of saccharase and maltase, as well as the productive indicators were conducted at 7, 14 and 21 days; the height of the microvilli was measured on days 7 and 21. The obtained data was analyzed according to a randomized design; analysis of variance ($P < 0.05$) and Tukey's multiple comparison test. In weight gain and feed conversion no significant differences were recorded between treatments at 21 days. Regarding disaccharidase enzyme activity only maltase activity was significantly higher ($P < 0.05$), at 21 days, in response to the INU+Gln-Glu mixture; no significant activity of the enzyme saccharase was recorded during the experiment. The birds that received the treatment of Gln-Glu showed the highest microvilli, in comparison with the birds that received antibiotic growth promoter ($P < 0.05$). The replacement of bacitracin by INU and/or INU+Gln-Glu in broiler chick diets until 21 days did not affect growth performance. Project financed by PAPIIT -UNAM: IT222611.

ÍNDICE

INDICE.....	1
REVISIÓN LITERARIA.....	2
Alimentos Funcionales.....	5
Inulina.....	6
Glutamina (Gln) y Glutamato (Glu).....	7
Intestino Delgado.....	8
JUSTIFICACIÓN.....	11
HIPOTESIS.....	12
OBJETIVO.....	13
Objetivo General.....	13
Objetivos Particulares.....	13
MATERIAL Y MÉTODOS.....	14
ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	19
RESULTADOS.....	20
DISCUSIÓN.....	24
CONCLUSIONES.....	25
BIBLIOGRAFÍA.....	26
ANEXOS.....	33

REVISIÓN LITERARIA

Los agentes antimicrobianos se utilizan en la producción animal con distintos fines, entre los que se incluye la prevención de enfermedades y la mejora de los parámetros productivos.¹ La adición de niveles bajos de antibióticos en la alimentación de las aves, ha sido una práctica habitual en la industria avícola ya que proporciona un aumento de 1 a 5% en la ganancia de peso y mejora el índice de conversión.¹ Se postula que los antibióticos mejoran la productividad de las aves gracias a su actividad sobre la población bacteriana, controlando así el crecimiento de bacterias patógenas del tracto gastrointestinal (TGI), siendo especialmente útiles en animales jóvenes donde constituyen una herramienta principal para controlar procesos entéricos de naturaleza subclínica frecuentes en la producción intensiva.²

Una preocupación a nivel internacional, es la salud de los consumidores que se relaciona con el uso de antibióticos como promotores de crecimiento en las aves, ya que existe un elevado desarrollo en la tolerancia a los antibióticos, generada por las bacterias entéricas de estos animales y no tanto la presencia de residuos tóxicos en las aves³. Esta resistencia bacteriana, por un lado, puede dar lugar a fallas en el tratamiento terapéutico veterinario y por otro, incrementar el riesgo de transferencia de bacterias resistentes a antibióticos, de los animales al hombre, o bien, de genes portadores de información que codifica resistencia de bacterias de animales a bacterias humanas.⁴ Un importante elemento de riesgo es el enorme potencial de intercambio genético en el intestino.⁴

La Federación Europea de Salud Animal publicó en el año 1999 que se administraron 4,700 toneladas de antibióticos en animales de granja, lo que representó un 35% del consumo total de estos.⁵

La industria avícola en los Estados Unidos y Europa occidental dejó voluntariamente de usar antibióticos como la penicilina, estreptomina, neomicina y tetraciclinas de manera rutinaria. En 1986, Suecia de manera unilateral, prohibió el uso de todos los antibióticos en el alimento para animales. Subsecuentemente otros países escandinavos como Dinamarca expresaron estar de acuerdo en la política Sueca sobre la prohibición del uso de los antibióticos promotores de crecimientos (APC).⁶ Además cuando Finlandia entró a la Unión Europea en 1995 comenzaron a ejercer influencia política para

prohibir el uso de los APC, el primer antibiótico en el que se enfocaron fue la avoparcina. A partir del primero de Enero del 2006 la Comisión Europea prohibió el uso de los APC de la avilamicina, bambermicina, bonesina, y salinomicina.⁶

Los Estados Unidos a lo largo de los años ha prohibido una multitud de antibióticos o antimicrobianos y antiparasitarios, lo que ha limitado cada vez más las opciones de tratamientos efectivos para los veterinarios. Por ejemplo, fue el primer país en prohibir el uso de los nitrofuranos, que servía como tratamiento para combatir diferentes enfermedades bacterianas en las aves. Más adelante se prohibió el uso de los imidazoles (como el ipronidazol) lo que dejó a la industria avícola sin opciones de tratamiento para la histomoniasis de pollos y pavos. Finalmente, en septiembre del año 2005 el Centro de Medicina Veterinaria de la Oficina de Drogas y Alimentos de Estados Unidos (FDA-CVM, por sus siglas en inglés), prohibió el uso de la enrofloxacin, la fluroquinolona más utilizada en la industria avícola para tratar las septicemias más comunes de las aves, causadas por *Escherichia coli*, además de otras infecciones importantes como el cólera aviar causado por la *Pasteurella multocida*. Mas reciente se prohibió el uso extra-etiqueta de las cefalosporinas en todos los animales destinados para el consumo humano lo que limitara aún más las opciones de tratamiento para los veterinarios de campo.⁶

Al margen de los límites legislativos, las aves deberán producirse en el futuro con alimentos libres de productos farmacéuticos.

En la actualidad, se propone el uso de ingredientes cuyo origen sea exclusivamente vegetal en dietas para animales de granja y sin promotores de crecimiento bacteriano.³ Por lo tanto, se hace necesario la búsqueda de nuevas alternativas para los promotores de crecimiento que sean compatibles con la seguridad alimentaria y la buena aceptación del consumidor. Numerosos productos naturales, incluyendo ácidos orgánicos, extractos vegetales, probióticos y prebióticos han sido propuestos.³ No obstante se necesita ampliar la investigación sobre las ventajas y desventajas de estas nuevas propuestas.

La absorción de nutrientes es un factor para la supervivencia, desarrollo y conversión alimenticia del pollo de engorda. Durante la primera y segunda semana de vida del pollo, la velocidad a la que se desarrolla el tracto gastrointestinal (TGI) es significativamente mayor en comparación con otros órganos, los cuales dependen esencialmente del potencial genético del ave, de ahí que el daño a la mucosa intestinal aumenta considerablemente los requerimientos de mantenimiento, lo que disminuye la disponibilidad de nutrientes para el crecimiento del ave.⁷ En el caso de las microvellosidades

(MV) de los enterocitos de las aves, se agrandan en longitud durante la primera semana de vida, lo que apunta a que el crecimiento del ave pueda estar limitado por el área de superficie del TGI. Por lo tanto, el desarrollo gastrointestinal se ve afectado por las restricciones de alimento o ayuno.⁷

Estudios fisiológicos han demostrado que las aves adaptan el funcionamiento del tracto intestinal de acuerdo a las características del contenido digestivo, y por lo tanto a la composición del alimento.⁷ Las aves ajustan la liberación de enzimas y modifican la velocidad de tránsito del contenido digestivo a fin de maximizar la digestión de los alimentos y la absorción de los nutrientes.⁷ Cuando la capacidad del sistema digestivo es insuficiente para digerir el alimento que consume, las respuestas fisiológicas, hormonales e inmunológicas de tipo local, conducen a una disminución del apetito y diarreas mecánicas, con el propósito de reducir o eliminar la causa del problema, y si estas persisten se manifiesta un crecimiento rápido de bacterias patógenas y una pérdida de la microbiota benéfica del intestino.⁷

Al nacimiento, los mecanismos de absorción en las aves están desarrollados, pero no han alcanzado el cien por ciento de su madurez al igual que su capacidad digestiva.⁸ En las primeras semanas de vida, las aves priorizan el envío de sus nutrientes hacia los órganos con mayor demanda metabólica, por ejemplo los órganos responsables de la respuesta inmunitaria⁹. La digestión y absorción de nutrientes depende en gran medida de la actividad enzimática del páncreas, órgano que es funcionalmente inmaduro en los primeros días de vida¹⁰. Por lo tanto la digestión de proteínas, los lípidos y los almidones es incompleta durante los primeros días de vida. Para favorecer el desarrollo temprano del páncreas y del TGI se requiere que el pollito tenga acceso rápido al agua y al alimento. En condiciones comerciales los pollitos se sacan de la incubadora cuando la mayoría de ellos han eclosionado. Los pollos permanecen en ayuno aproximadamente 36 horas, debido a los manejos que se realizan en la granja como: operaciones de manejo en la incubadora y el transporte. Bajo estas circunstancias, la capacidad del pollito para digerir el alimento y hacer frente al estrés del manejo y al estrés ambiental es limitada.

En ausencia de promotores de crecimiento de tipo antibacteriano, es ineludible reforzar la bioseguridad para reducir al mínimo la incidencia de enfermedades entéricas asociadas a cambios en la microbiota intestinal como pueden ser:

a) Utilizar alimentos muy digestibles.¹¹

b) Mejorar la digestibilidad de las materias primas mediante procesos de una pre-digestión enzimática.¹¹

c) Uso de alimentos funcionales.¹¹

Esta última estrategia, se basa en el desarrollo de productos bióticos enfocados a mejorar el estado de salud del intestino y corregir la sanidad del consumidor.¹²

ALIMENTOS FUNCIONALES (AF)

Un alimento funcional se puede definir como: un alimento que contiene un componente que puede ser un nutriente o no, que modifica de una determinada forma una o más funciones del organismo para obtener un beneficio y que dicho resultado vaya más allá de lo tradicional, es decir, que proporcione a los consumidores ventajas para modular funciones corporales específicas y reducir el riesgo de algunas enfermedades.¹²

Uno de los productos bióticos más utilizados en la formulación de los AF son los probióticos, los cuales son cultivos bacterianos activos de la microbiota intestinal benéfica, que se adicionan al alimento, un ejemplo de cultivos bacterianos son los *Lactobacillos acidophilus* los cuales son la primera línea de defensa contra organismos invasores.¹³

Otra herramienta usada para la formulación de AF es la inclusión de prebióticos. Estos ingredientes no pueden ser digeridos por el huésped, por lo tanto, su efecto benéfico se debe a la estimulación selectiva de especies bacterianas que favorecen el trabajo mecánico y fisiológico del sistema digestivo, identificadas en general como bacterias benéficas para el huésped. Uno de los prebióticos más estudiados es la inulina.¹³

INULINA

La inulina es un carbohidrato (fructooligosacárido) formado por 6 a 12 fructosas unidas por enlaces β -(2 \rightarrow 1) con una glucosa terminal. Hasta hace poco, la inulina se consideraba una molécula lineal, sin embargo, con el uso optimizado de análisis especializados, se ha podido demostrar que incluso inulina nativa tiene de 1-2% de ramificaciones. También existen en una forma cíclica que contiene 6, 7 y 8 anillos de fructofuranosa.¹⁴

La inulina está presente en una gran variedad de frutas y vegetales y se mencionan que la cebolla, el trigo, el ajo y el poro, así como la familia de las alcachofas, dalias y chicorias contienen considerables cantidades de este fructano.¹⁵ La mayoría de la inulina comercialmente disponible es sintetizada a partir de la sacarosa o extraída de la raíz de la chicoria.¹⁶ Este fructano no tiene mal sabor, ni olor, y no puede ser hidrolizado por las enzimas del sistema del tracto digestivo de los monogástricos.¹⁶ Este fructooligosacárido favorece selectivamente el crecimiento de poblaciones bacterianas benéficas para el huésped¹³. En monogástricos el tracto intestinal es colonizado por una amplia variedad de bacterias, en su mayoría anaeróbios y anaeróbios facultativos. En el intestino delgado, el número y la diversidad de los microorganismos es más baja que en el colon.

En el colon, los productos de la fermentación de carbohidratos son utilizados por las bacterias del intestino, esto da como resultado una serie de compuestos que incluyen al amoníaco y ácidos grasos de cadena corta (AGV`s, por sus siglas en inglés). Los AGV`s (acetato, propionato y el butirato) son utilizados por las células del epitelio intestinal (enterocitos) como fuente de energía.¹⁴ Los AGV`s tienen un efecto positivo en la prevención de enfermedades gastrointestinales y se reporta el butirato protege a la mucosa intestinal ya que facilita la diferenciación celular y mantiene la integridad de la mucosa intestinal.¹⁵

El efecto que tienen los sustratos bacterianos en donde se incluyen a la inulina, oligofructosa, pectina, polidesxtrosa para la producción de AGV`s sugieren que las bacterias intestinales benéficas alimentadas con un sustrato específico (prebiótico) presentan la ventaja de realizar una mayor proliferación celular, comparada con el resto de las bacterias del sistema gastrointestinal. Estudios *in vitro* e *in vivo* con prebióticos, han demostrado que algunos de estos tienen la capacidad de reducir el pH del contenido intestinal, incrementar la cantidad de AGV`s, favorecer la síntesis de metabolitos bacterianos y restaurar la ecología intestinal de individuos. Además estos factores tienen la capacidad de regular el desarrollo de la mucosa intestinal.^{12,17,18,19}

GLUTAMINA (Gln) Y GLUTAMATO (Glu)

El principal papel de los aminoácidos es formar parte estructural de las proteínas y péptidos, pero además, algunos aminoácidos (glutamina, arginina, leucina, prolina, cisteína y triptófano) están involucrados en la regulación de caminos metabólicos, por lo tanto, su deficiencia puede ocasionar problemas en el crecimiento, mantenimiento, inmunidad, síntesis de proteína y salud del animal.²⁰ La glutamina y el glutamato, están presentes en concentraciones relativamente altas en proteínas que contienen los vegetales y animales.²²

El glutamato y la glutamina son aminoácidos no esenciales y se pueden transformar el uno al otro, en diferentes partes del organismo como son el intestino, hígado y riñón. Ambos están relacionados al desarrollo del tracto gastrointestinal de los pollos.^{20,21,22} La Gln se distribuye ampliamente en la mucosa del intestino delgado, aunque hay autores que proponen que Glu dietario es el sustrato más importante para el intestino.²³

La Glutamina es un aminoácido neutro. Es sintetizado a partir del amoníaco y del glutamato (producto de la transaminación de aminoácidos ramificados) principalmente en el músculo esquelético. En estudios realizados sugieren que la síntesis endógena de glutamina no es suficiente para cumplir con las exigencias exógenas de animales en condiciones de destete, sepsis, transporte y ejercicio, o durante el periodo de crecimiento rápido de los tejidos.²⁴ Por lo tanto, la Gln se convierte en un aminoácido esencial bajo condiciones de estrés.^{24,25} Además, de su utilización para la síntesis de proteína, la glutamina es degradada por la glutaminasa para formar glutamato en todas las células animales que contienen mitocondrias, siendo el intestino delgado, los riñones y los leucocitos sus principales sitios de catabolismo.²⁶ La Gln libre es especialmente abundante en diversos fluidos fisiológicos, como el plasma, músculo esquelético y leche de la cerda.²⁷

La función de la glutamina es importante como sustrato energético para las células de división rápida, como enterocitos, linfocitos, macrófagos y células renales.²⁸ También es precursor de la síntesis de los nucleótidos de purina y pirimidina, esenciales para la proliferación de células, incluyendo los linfocitos intraepiteliales, células nerviosas embrionarias y trofoblastos²⁹. La Gln es el principal aminoácido para la síntesis endógena de arginina en la mayoría de los mamíferos como cerdos, bovinos y ovinos, a través del eje intestinal.³⁰ La desaminación de la glutamina genera glutamato que puede ser utilizado para la síntesis de glutatión, el antioxidante de bajo peso molecular más abundante en las células.³¹

Hay antecedentes de la suplementación de glutamina en lechones, pollos de engorda y terneros lactantes^{21,23,25,26,27,32,33,34}. Otros autores reportaron que la adición de Gln (1%) o Glu (1%) a la dieta de cerdos durante el periodo de lactación, mantienen las características funcionales y estructurales del intestino, mejorando su absorción a través del transporte activo, durante la primer semana después del destete.³² Por otro lado, en animales canulados, la Gln dietética no está sujeta a una hidrólisis ácida en el estómago y en la parte superior del duodeno, por lo que se encuentra disponible en el intestino delgado para su absorción y utilización metabólica.³² Otro estudio menciona que la suplementación de 1% de Gln en dietas con base de maíz y harina de soya previene la atrofia del yeyuno de cerdos durante la primera semana posdestete y aumenta la conversión alimenticia.³³ En pollos de engorda jóvenes la adición de 1% de Gln aumenta la altura de las microvellosidades en el intestino delgado y promueve el desarrollo de la mucosa intestinal, además de mejorar el desempeño productivo.³³ Por otra parte, cuando se desafió a terneras lactantes con endotoxemia, la presencia de Gln al 1% en la leche, redujo la caída de las concentraciones plasmáticas de aminoácidos esenciales y no esenciales, y facilitó la recuperación de los neonatos con sepsis con balance negativo de nitrógeno.³⁴

INTESTINO DELGADO

El intestino delgado de las aves se extiende desde la molleja al origen de los ciegos. Es comparativamente largo y de tamaño casi uniforme por todas partes. Se subdivide en duodeno, yeyuno e íleon.

El duodeno sale del estómago muscular (molleja) por su parte anterior derecha, se dirige hacia atrás y abajo a lo largo de la pared abdominal derecha, en el extremo de la cavidad dobla hacia el lado izquierdo, se sitúa encima del primer tramo duodenal y se dirige hacia delante y arriba. De este modo se forma un asa intestinal, en forma de "U", cuyas dos ramas están unidas por restos de mesenterio. Entre ambos tramos de dicha asa se encuentra un órgano alargado, el páncreas o glándula salival abdominal, que consta de tres largos lóbulos. El yeyuno del ave consta de unas diez asas pequeñas, suspendidas de una parte del mesenterio. El íleon, cuya estructura es estirada y se encuentra en el centro de la cavidad abdominal; desemboca donde empiezan los ciegos y empieza el intestino grueso. La mucosa del intestino (MI) presenta muchas características como pliegues que aumentan el área de superficie epitelial para la absorción.³⁵

La MI tiene vellosidades en su pared que están expandidas en la superficie y expuestas al contenido luminal. Las vellosidades de las aves tienen forma de dedo en comparación con las vellosidades de los mamíferos que tienen forma de una hoja. En la mayor parte los enterocitos comprenden el epitelio de las microvellosidades. Sin embargo, sólo las células que se encuentran en la parte superior son capaces de tener actividades de digestión y absorción. Estos enterocitos maduros aumentan aún más la exposición luminal debido a las microvellosidades que tienen en su superficie luminal y tienen una red de glicocalix, la cual está compuesta de glicoproteínas. Una característica que tiene estas microvellosidades es la motilidad.³⁶

Otro tipo de células que se encuentra en el intestino y que juega un importante papel son las células caliciformes que también se encuentran en el epitelio de las vellosidades. Estas células cumplen un importante papel el cual es secretar mucina que sirve como un lubricante para mantener húmedo y proteger el epitelio. Además de que se cree que influye en la absorción de nutrientes.³⁵ Existen otro tipo de células como las de Panet que su principal función es secretar lisozimas que actúan sobre microorganismos patógenos, y células indiferenciadas que sirven para regenerar células propias del intestino.³⁵

En los pollitos poco antes de nacer los enterocitos son redondos e inmaduros, sin embargo, inmediatamente después de nacer los enterocitos crecen rápidamente alargándose y desarrollando una pronunciada polaridad y definen la membrana del borde del cepillo (MBC) o membrana apical, membrana basal y membrana basolateral.³⁵

La MBC intestinal constituye la barrera física que debe ser atravesada por los nutrientes concentrados en el lumen intestinal. Las membranas son estructuras de lípidos, carbohidratos y proteínas cuyos componentes se mantienen unidos formando una bicapa por medio de enlaces no covalentes. En la MBC se encuentran un conjunto de enzimas, que degradan los compuestos de la dieta y sistemas de transporte que incorporan los productos de la digestión. Entre éstas se encuentran la fosfatasa alcalina, disacaridasas y las aminopeptidasas. Estas enzimas permiten la digestión cerca de la mucosa, lo que facilita la absorción de nutrientes a través del enterocito, ya que primero debe atravesar la membrana del borde de cepillo para poder ingresar al citoplasma del enterocito y finalmente salir por la membrana basolateral hacia la circulación.³⁶

Dadas las características y la importancia que tienen las membranas desde hace tiempo se han realizado investigaciones sobre las vesículas de membrana del borde de cepillo (VMBC). Éstas son formadas por medio de la

fuerza centrífuga (Figura 2), la cual rompe la membrana que forma el enterocito y deja libre la MBC, la cual tiende a cerrarse formando una vesícula, que deja expuesta las microvellosidades hacia el exterior (Figura 3).³⁷ Las VMBC han sido una importante herramienta para estudiar los mecanismos moleculares de los procesos intestinales, tales como transporte de L-glucosa, D-fructosa, L-amino ácidos, fosfato inorgánico y sodio.^{37,38,39} En humanos se han tomado biopsias de tejido intestinal para conocer la composición proteica de la membrana y su actividad enzimática, así como establecer defectos o anormalidades, y diagnosticar la pérdida de sales biliares por heces.^{39,40} En conejos se han utilizado para evaluar mecanismos de transporte de glucosa y colina; en cerdos se han utilizado como modelo para estudiar el daño tisular por agentes virales y el transporte de glucosa, el comportamiento de la serotonina (la membrana presenta receptores de la hormona) ya que ésta está involucrada en procesos sobre la motilidad intestinal y el transporte de electrolitos.^{41,42} En aves de engorda se han utilizado para conocer la actividad hidrolítica del fitato por acción de la fitasa en las membranas del borde de cepillo y el mecanismo por el cual es absorbida la glucosa a través del intestino y la actividad enzimática de sacarasa y maltasa en duodeno de aves de engorda.^{35,38,43,44}

Las VMBC son herramienta útil para conocer los mecanismos por los cuales los componentes de una dieta, pueden modificar la ecología del TGI, debido a que las VMBC poseen varias enzimas hidrolíticas y un sistema de transporte amplio que son de importancia para la absorción de los nutrientes, lo cual amplía el área de aplicación de las VMBC, como sería el evaluar la actividad de una(s) enzima(s) específica de la membrana, además de proporcionar algún tratamiento en el alimento.^{38,45,46}

JUSTIFICACIÓN

El impacto que la industria del pollo de engorda tiene sobre la alimentación humana es incuestionable, sin embargo, un sector de la sociedad que va cada día en aumento, exige en su alimentación productos obtenidos a partir de una producción libre de antibióticos, por lo que surge la necesidad de explorar procesos de producción de pollo de engorda, que nos permitan sustituir a los antibióticos como promotores de crecimiento por ingredientes llamados naturales, que actúen sobre la ecología intestinal y que puedan repercutir favorablemente en los costos de producción del pollo. Con base a lo reportado en la literatura, una fuente alterna a considerar es la inulina, por sus efectos de prebiótico, adicionada con los aminoácidos glutamato y glutamina, que participan en el metabolismo energético del enterocito y el desarrollo de las microvellosidades del intestino. El presente trabajo tuvo como objetivo investigar parte de los beneficios que aportan estas moléculas (Inulina, Glutamato y Glutamina), adicionadas en la dieta del pollo de engorda.

HIPÓTESIS

La sustitución del antibiótico como promotor de crecimiento por inulina, o por los aminoácidos glutamato-glutamina o la mezcla inulina mas glutamina-glutamato en dietas para pollo de engorda durante la etapa de iniciación, tendrá un efecto positivo sobre la eficiencia productiva del ave en ese periodo.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Evaluar la adición de inulina, glutamina-glutamato, y la mezcla de inulina+glutamina-glutamato en la dieta del pollo de engorda, a través de la actividad de las enzimas sacarasa y maltasa, longitud de las microvellosidades intestinales, y eficiencia productiva del pollo como una alternativa al uso de promotores de crecimiento.

OBJETIVO PARTICULAR

Evaluar el efecto de la inulina, glutamato-glutamina sobre la actividad de las enzimas sacarasa y maltasa, presentes en la membrana plasmática del borde de cepillo del enterocito, así como la longitud de las microvellosidades intestinales, con la finalidad de determinar su influencia sobre la absorción de nutrientes y en la ganancia de peso y conversión alimenticia.

MATERIAL Y MÉTODOS

Las pruebas de campo se realizaron en el mes de febrero y marzo del 2012 en el Centro de Enseñanza, Investigación y Extensión en Producción Avícola (CEIEPAv) de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia (FMVZ), de la Universidad Nacional Autónoma de México, que se encuentra ubicado en la Colonia de Santiago Zapotitlán, Delegación Tláhuac, México, D.F., presenta un clima templado subhúmedo, con una temperatura anual de 16°C, donde el mes más frío es enero y el más caluroso mayo, la precipitación pluvial media es de 600 a 800mm.⁴⁷

Se utilizaron 300 pollos de engorda Ross 308 machos de 1 a 21 días de edad. La prueba tuvo una duración de 3 semanas y las aves provenían de una incubadora comercial. Fueron alojados en una caseta experimental de ambiente natural con jaulas de desarrollo en baterías eléctricas Petersime® de 68X68cm.

La dieta base fue formulada en base en sorgo y pasta de soya (Cuadro 1). Los diferentes tratamientos se describen en el Cuadro 2. El alimento fue elaborado en la planta de alimentos de CEIPAv. Las aves fueron provistas de agua y alimento *ad libitum*.

En los tratamientos correspondientes se incluyó (0.5%) inulina vegetal y (0.5%) AminoGut® como fuente de glutamato y glutamina (10% como mínimo de cada uno de los aminoácidos) en la dieta. El tiempo de muestreo para la actividad de las enzimas sacarasa, maltasa y variables productivas fue a los 7, 14 y 21 días de edad del pollito; la medición de la altura de las microvellosidades se realizó los días 7 y 21 (los porcentajes de inclusión y los tiempos de muestreo fueron seleccionados con base a lo descrito en la literatura)^{48,49}. Los tratamientos se distribuyeron de la siguiente manera: cinco tratamientos, con cinco réplicas, con 12 aves por réplica; completamente al azar.

Para las pruebas de actividad enzimática se realizó la eutanasia (siguiendo los lineamientos del CICUAE de la FMVZ-UNAM) a 10 pollos de cada tratamiento y se tomaron las muestras para la caracterización de las vesículas de membrana del borde de cepillo del enterocito.

Cuadro 1. Dieta Base

INGREDIENTE	kg
SORGO	486.139
SOYA	409.978
ACEITE VEGETAL	46.731
ORTOFOSFATO	18.456
CARBONATO DE CALCIO	15.246
CLORURO DE COLINA	1
SAL	3.817
METIONINA 99	3.482
L-LISINA HCL	1.729
VITAMINAS POLLO-E	1
L-TREONINA	0.874
COCCIDEOSTATO	0.5
MINS-CEIEPA	0.5
IQ ANTIOXIDANTE	0.15
CELULOSA	10.4
INULINA	0
GLUTAMINA + GLUTAMATO	0
BACITRACINA	0
TOTAL	1,000

NUTRIENTES	ANALISIS CALCULADO
EM (Kcal/Kg)	3180
PROTEÍNA TOTAL (%)	21.50
LISINA (%)	1.3
METIONINA+CISTEINA (%)	1.0
CALCIO (%)	1.0
FÓSFORO DISPONIBLE	0.5

Cuadro 2.

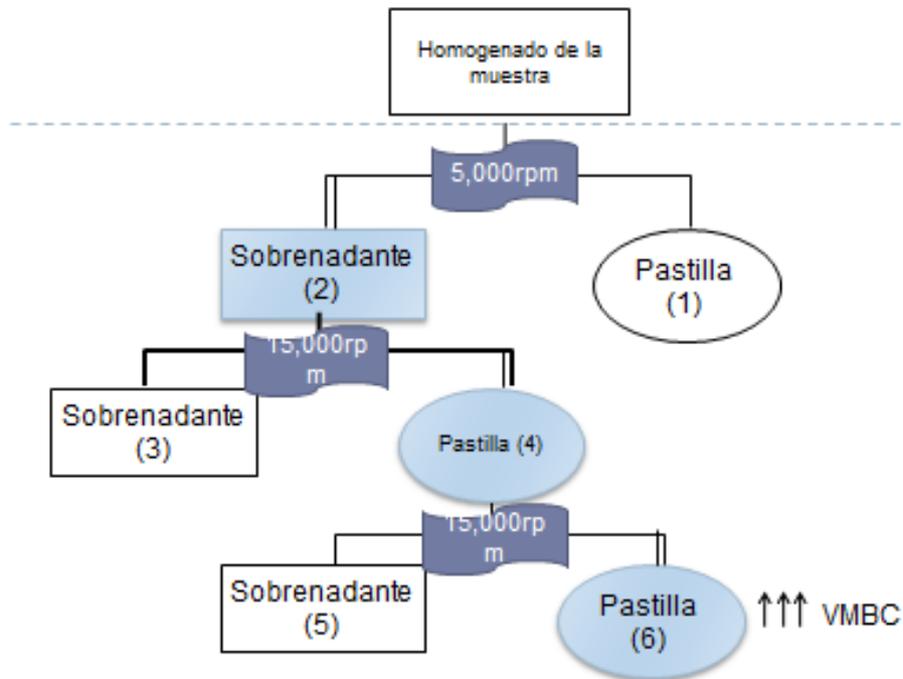
T1	T2	T3	T4	T5
Dieta base	Dieta base	Dieta base	Dieta base	Dieta base
	+	+	+	+
	APC	0.5 % IN	0.5% Gln-Glu	0.5% IN
				+
				0.5% Gln-Glu

APC: Antibiótico promotor de crecimiento; IN: Inulina; Gln: Glutamina;

Glu: Glutamato

Para la obtención de las membranas plasmáticas del enterocito, se utilizó una porción del duodeno, el cual fue lavado con una solución salina, se realizó un corte longitudinal del mismo; para después obtener la mucosa por medio de un raspado del tejido. Las VMBC se obtuvieron a través de una centrifugación diferencial de la mucosa obtenida de cada muestra (Figura 1).⁴⁰

Figura 1. Diagrama de centrifugación para la obtención de las VMBC



rpm: revoluciones por minuto

Para medir la actividad enzimática se utilizó la técnica citada por Dahlqvist *et al.* (1964)⁵⁰ en donde las vesículas de membrana son incubadas en presencia de sacarosa y maltosa como sustrato y después de 30 minutos en incubación se mide espectrofotométricamente las glucosas liberadas.⁵⁰

Para la medición de la longitud de las vellosidades intestinales, se realizó la eutanasia a 2 aves por cada tratamiento. Para la obtención del tejido se obtuvieron fragmentos de 1.5 cm³ que se fijaron con una solución de formalina amortiguada al 10%. Los tejidos se procesaron con la técnica de inclusión en parafina en el laboratorio de Biología Tisular de la Reproducción "Rosa E. Lavielle", del Departamento de Morfología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México. Para su preparación se utilizó un procesador de tejidos (Scientific Instruments AO T/P 8000®). Con un micrótopo (Leica RM2125RT®), se obtuvieron cortes de tejido de 6 µm de grosor, a partir de bloques de parafina. Algunos cortes se tiñeron con Hematoxilina y Eosina.

A partir de los fragmentos de tejido procesados de cada grupo se obtuvieron cinco cortes histológicos. En cada corte histológico se capturaron ocho campos microscópicos para su análisis morfométrico.⁵¹

Para realizar las mediciones de los tejidos se utilizó la lente objetivo 40X de un microscopio óptico (Motic BA310[®]) conectado a una cámara para microscopía digital (Moticam 2300[®]) y un software que permitió hacer el análisis computarizado de las imágenes (Motic Images Plus[®], versión 2.0).

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se realizó un estudio experimental y longitudinal, en pollitos de 1 a 21 días. En todos los resultados se realizó un diseño completamente al azar, los resultados obtenidos de las variables estudiadas fueron sometidos a un análisis de varianza y las medias fueron comparadas por la prueba de Tukey $\alpha = 0.05$.⁵²

Los análisis estadísticos se realizaron con el programa SigmaPlot 12 (Systat Software Inc.2012).

El modelo estadístico está representado mediante la siguiente ecuación:

$$Y_{ij} = \mu_i + T_j + \epsilon_{ij}$$

Dónde:

Y_{ij} = la j-ésima observación del i-ésimo grupo de tratamientos, la variable respuesta.

μ = es la media de la i-ésima población en tratamiento.

T_j = efecto de tratamiento (5 tratamientos).

ϵ_{ij} = es el error experimental

Los datos ganancia de peso, consumo de alimento, peso, índice de conversión alimenticia y actividad enzimática en la membrana del borde de cepillo en el duodeno presentaron una distribución normal y homogeneidad de varianzas realizándose análisis de varianza y comparación múltiple (Tukey). Para la altura de las microvellosidades no se observó homogeneidad de las varianzas aplicándoles una prueba no paramétrica Kruskal-Wallis y comparación múltiple de medias (Tukey) con un nivel de significancia del 95%.

RESULTADOS

En el Cuadro 1, se muestran los datos de ganancia de peso por semana, no se encontraron diferencias estadísticas ($P > .05$) entre tratamientos al día siete, 14 y 21.

CUADRO 1. GANANCIA DE PESO DE LOS POLLOS DURANTE EL PERIODO EXPERIMENTAL POR SEMANA (g)

	DB	APC	INU	Gln-Glu	INU+Gln-Glu
DÍA 7	128 a	132 a	130 a	128 a	119 a
DÍA 14	269 a	284 a	279 a	286 a	291 a
DÍA 21	323 a	290 a	341 a	302 a	303 a

Valores con distinta literal en el misma hilera son estadísticamente diferentes ($P < 0.05$).

DB: Dieta Basal; APC: Antibiótico Promotor de Crecimiento; INU: Inulina; Gln-Glu: Glutamina más Glutamato

En el Cuadro 2, se muestran los datos registrados de consumo de alimento. No se detectaron diferencias estadísticas en esta variable, durante el periodo experimental y tampoco entre tratamientos.

CUADRO 2. CONSUMO DE ALIMENTO DE LOS POLLOS DURANTE EL PERIODO EXPERIMENTAL (g)

	DB	APC	INU	Gln-Glu	INU+Gln
DÍA 7	137 a	142 a	135 a	136 a	125 a
DÍA 14	285 a	307 a	299 a	309 a	295 a
DÍA 21	306 a	353 a	350 a	363 a	385 a

Valores con distinta literal en el misma hilera son estadísticamente diferentes ($P < 0.05$).

DB: Dieta Basal; APC: Antibiótico Promotor de Crecimiento; INU: Inulina; Gln-Glu: Glutamina más Glutamato

Cuadro 3, indica el peso de las aves durante el experimento; a los días uno, siete, 14 y 21. No se encontraron diferencias estadísticas ($P>0.05$).

CUADRO 3. PESO TOTAL DE LOS POLLOS DURANTE EL PERIODO EXPERIMENTAL (g).

	DB	APC	INU	Gln-Glu	INU+Gln
DÍA 1	44 a	44 a	43 a	44 a	44 a
DÍA 7	172 a	176 a	174 a	172 a	162 a
DÍA 14	441 a	460 a	453 a	458 a	453 a
DÍA 21	764 a	750 a	794 a	740 a	756 a

Valores con distinta literal en el misma hilera son estadísticamente diferentes ($P<0.05$).

DB: Dieta Basal; APC: Antibiótico Promotor de Crecimiento; INU: Inulina; Gln-Glu: Glutamina más Glutamato

Los valores de conversión alimenticia se presentan en el Cuadro 4. En este cuadro podemos observar que no hay diferencias estadísticas en esta variable para las tres semanas que duro el experimento.

CUADRO 4. CONVERSIÓN ALIMENTICIA DE LOS POLLOS DURANTE EL PERIODO EXPERIMENTAL.

	DB	APC	INU	Gln-Glu	INU+Gln
DÍA 7	1.07 a	1.08 a	1.04 a	1.06 a	1.06 a
DÍA 14	1.06 a	1.08 a	1.07 a	1.08 a	1.03 a
DÍA 21	1.21 a	1.24 a	1.17 a	1.22 a	1.27 a

Valores con distinta literal en el misma hilera son estadísticamente diferentes ($P<0.05$).

DB: Dieta Basal; APC: Antibiótico Promotor de Crecimiento; INU: Inulina; Gln-Glu: Glutamina más Glutamato

Cuadro 5, con relación a la medición de la actividad de la enzima maltasa, enzima que es la responsable de hidrolizar al disacárido maltosa, que proviene de la digestión de almidón, observamos que la presencia de INU + Gln-Glu en la dieta, incrementó significativamente la actividad de esta enzima al día 21 en comparación a los demás tratamientos, situación que se podría traducir en una mayor disponibilidad de glucosa para ser absorbida por el enterocito. Sin embargo, la glutamina en la dieta no favoreció la actividad de esta enzima, ya que mostró los valores de actividad más bajos durante el experimento.

CUADRO 5. ACTIVIDAD ENZIMÁTICA DE LA MALTASA* EN LA MEMBRANA DEL BORDE DE CEPILLO EN EL DUODENO DE POLLOS (1-21 DÍAS).

	DB	APC	INU	Gln	INU+Gln-Glu
DÍA 7	58.70 a	52.93 a	49.93 a	45.65 a	45.16 a
DÍA 14	109.00 a	119.00 a	119 a	90.00 b	107.00 a
DÍA 21	80.99 a	77.15 ab	87.23 ac	70.65 b	96.26 c

Valores con distinta literal en el misma hilera son estadísticamente diferentes (P<0.05).
 DB: Dieta Basal; APC: Antibiótico Promotor de Crecimiento; INU: Inulina; Gln-Glu: Glutamina más Glutamato
 *Glucosa /mg de proteína/30min.

Con respecto a la determinación de la actividad de la enzima sacarasa presentada en el Cuadro 6, los datos registraron poca o nula actividad de ella, independientemente de la dieta, lo que sugiere que la enzima sacarasa no participa en la digestión de carbohidratos en el pollo de engorda.

CUADRO 6. ACTIVIDAD ENZIMÁTICA DE LA SACARASA* EN LA MEMBRANA DEL BORDE DE CEPILLO EN EL DUODENO DE POLLOS (1-21 DÍAS).

	DB	APC	INU	Gln-Glu	INU+Gln-Glu
DÍA 7	ND	ND	ND	ND	ND
DÍA 14	ND	ND	ND	ND	ND
DÍA 21	7.72	4.21	0.06	2.20	2.24

Valores con distinta literal en el misma hilera son estadísticamente diferentes (P<0.05).
 DB: Dieta Basal; APC: Antibiótico Promotor de Crecimiento; INU: Inulina; Gln-Glu: Glutamina más Glutamato
 ND=no detectable.
 *Glucosa /mg de proteína/30min.

Los datos registrados sobre la altura de las microvellosidades intestinales se presentan en el Cuadro 7, los datos obtenidos muestran que sólo el grupo de pollos que recibió glutamina más glutamato en la dieta, alcanzó una mayor altura al día 21. Llama la atención que el promotor de crecimiento (APC) y la inulina (INU) no modificaron positivamente el crecimiento de las microvellosidades.

**CUADRO 7. ALTURA DE MICROVELLOSIDADES DE LOS POLLITOS
DUERANTE EL PERIODO EXPERIMENTAL (Micras)**

	DB	APC	INU	Gln-Glu	INU+Gln
DÍA 7	478.27 a	361.53 b	346.36 b	431.00 a	470.42 a
DÍA 21	572.00 ac	560.83 ab	492.69 b	677.13 c	508.24 a

Valores con distinta literal en el misma hilera son estadísticamente diferentes ($P < 0.05$).

DB: Dieta Basal; APC: Antibiótico Promotor de Crecimiento; INU: Inulina; Gln-Glu: Glutamina más Glutamato

DISCUSIÓN

La ecología microbiana intestinal juega un papel vital en la función nutricional, fisiológica e inmunológica del hospedador.⁵³ La composición y actividad metabólica de la microbiota intestinal puede ser influenciada por una variedad de factores, incluyendo la dieta.⁵⁴

Los fructo-oligosacáridos (FOS, oligosacáridos e inulina), son prebióticos más utilizados en la industria avícola.^{54,55} Tales prebióticos han mostrado mejorar la eficiencia productiva del pollo de engorda.⁵⁶ El modo de acción de estos ingredientes no digeribles dentro del intestino del hospedador, es que aportan sustratos cuantitativamente disponibles para la microbiota del tracto gastrointestinal⁵⁷ y favorecen el crecimiento de las bacterias benéficas (*Bifidobacterium* y *Lactobacillus*) e inhiben el crecimiento de bacterias patógenas como *Escherichia coli* y *Salmonella spp.*⁵⁸

Estudios realizados con inulina o FOS en la dieta de los pollos de engorda, muestra resultados contradictorios. Ammerman *et al.* (1989) reportaron que 3.75 g de FOS/kg de alimento incrementaron la ganancia de peso de los pollo.⁵⁹ Otros como Yusrizal y Chen observaron que la inulina o FOS a 10 g/kg de dieta mejoró la ganancia de peso y conversión alimenticia en pollos hembras, pero no en machos.⁶⁰ Xu *et al.* (2003), también observaron mejoras en la ganancia de peso cuando agregaron 4 g de FOS/kg de alimento en comparación con la dieta basal.⁵⁶ Rebolé *et al.* (2010), mencionaron que la adición de inulina a niveles de 10 a 20 g/kg de dieta trigo-cebada mejoró la ganancia de peso de los pollos;⁶¹ a diferencia de lo reportado por Waldroup *et al.* (1993) y Williams *et al.* (2008) que no encontraron una mejora en la ganancia de peso de los pollos utilizando concentraciones de FOS de 3.7 y 0.6 g/kg en la dieta, respectivamente.^{62,63} Biggs *et al.* (2007) utilizaron inulina y FOS en concentraciones de 4 y 8 g/kg; Rehman *et al.* (2007, 2008) incluyeron inulina 10 g/kg y no observaron algún efecto positivo sobre el crecimiento de los pollos.⁶⁵ Bartell y Batal (2007) observaron que la ganancia de peso en pollos de engorda a los 21 días, alimentados con una dieta que contenía 1% de Gln, fue significativamente mayor en comparación con los pollos de la dieta testigo.⁶⁶

El presente estudio reveló que la composición de las dietas no afectó la ganancia de peso final de los pollitos. Estas respuestas discordantes de los pollos a la inulina o FOS, depende de varios factores, tales como la concentración del prebiótico, tipo de dieta, características del animal y el manejo.⁶⁷

El intestino de los animales juega un papel clave en la digestión y absorción de nutrientes y correlaciona la función digestiva con el desarrollo intestinal. Helton *et al.* (1990) encontraron un efecto positivo al utilizar glutamina en la dieta; sobre el peso del intestino, contenido de proteína y ADN en el intestino delgado de humanos.⁶⁸ Salloum *et al.* (1989) demostraron el efecto de la glutamina para estimular el crecimiento de la mucosa intestinal, en dietas para

humanos.⁶⁹ Dai *et al.* (2009), reportaron que suplementar glutamina en la dieta a concentraciones de 0.5 % y 1.0%, mejora el crecimiento de los pollos, sometidos a estrés calórico.⁴⁹ Rehman *et al.* (2007, 2008), observaron que la glutamina promueve un incremento en la altura de vellosidades.^{65,70}

En este estudio se encontró que el uso de la glutamina+glutamato incrementó la altura de las vellosidades a los 21 días. Newsholme *et al.* (1985) puntualizaron que la importancia del metabolismo de la glutamina vía el glutamato en el enterocito, radica en la conversión del α -cetoglutarato a oxaloacetato, el cual es convertido subsecuentemente a piruvato.⁷¹ La elevada utilización de la glutamina proporciona las condiciones óptimas para regular el uso de intermediarios del ciclo de Krebs para la síntesis de energía, así como para la formación de nucleótidos de purina y pirimidina durante el ciclo celular. Por lo tanto, el suministro de glutamina + glutamato en la dieta favorecen la elevada actividad metabólica del enterocito así como su proliferación y maduración.⁷²

El proceso digestivo relaciona la actividad de las enzimas digestivas, y cómo los nutrientes son digeridos por esas enzimas. La actividad de las enzimas se ve afectada por la dieta⁷³ y la glutamina incrementa la actividad de las enzimas proteasa, lipasa, lactasa y sacarasa.⁷⁰ La fosfatasa alcalina es un marcador intestinal y refleja la proliferación intestinal y la capacidad de absorción del intestino, algunos estudios indican que la actividad de esta enzima aumenta en peces y ratas que consumieron glutamina.^{74,75}

La adición de glutamina-glutamato en la dieta de los pollos no aumentó la actividad de la enzima maltasa, sin embargo, la mezcla INU + Gln-Glu si modificó positivamente la actividad de esta enzima a los 21 días. La enzima maltasa es fundamental para la absorción de la glucosa proveniente de la digestión del almidón, por lo que este efecto podría ser rentable para la etapa de finalización del pollo en algún momento.

En este estudio se observó que la ausencia del APC (Bacitracina) en la dieta no afectó los distintos indicadores estudiados, lo que nos indica que la inclusión del ACP en la dieta del pollo de engorda, podría ser discutible.

CONCLUSIONES

Los datos de este trabajo muestran que es factible sustituir el antibiótico promotor de crecimiento por inulina (INU) o bien la mezcla de inulina más glutamina-glutamato (INU + Gln-Glu) sin afectar el rendimiento productivo del pollo.

BIBLIOGRAFÍA

1. Thomke S, Elwinger K. Growth promotants in feeding pigs and poultry. I. Growth and feed efficiency responses to antibiotic growth pomotants. *Ann. Zootech.* 1998;47:85-97.
2. Long JR, Barnum DA. Necrotic Enteritis in Broiler Chicken II. Pathology and Proposed Pathogenesis. *Can J Comp Med.* 1977;38(4):467-474.
3. Mateos G, Lázaro R, Gracia M. Modificaciones nutricionales y problemática digestiva en aves: XIII curso de especialización: Avances en Nutrición y Alimentación Animal. Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal (FEDNA). Madrid, España. 2002.
4. Errecalde JO. Uso de antimicrobianos en animales de consumo. Incidencia del desarrollo de resistencia en salud pública. FAO 2004.
5. FEDSA. 1999. Antibiotics for Animals. A FEDSA perspective on antibiotics, animal health and the resistance debate. European Federation of Animal Health, Rue Defacqz, Brussels, Belgium., pp:17-22
6. Cervantes HM, El Uso de Antibióticos en la Producción avícola: pasado, presente y futuro. Memorias CLANA 2012.
7. Dibner JJ, Kitchell ML, Atwell CA, Ivery FJ, The effect of dietary ingredients and age on the microscopic structure of gastrointestinal tract in poultry. *J Applied Poultry Res* 1996;5:70-77.
8. Mahagna M, Nir I, Larbier M, Nitzan Z. Efficacy of supplementation of α -amilasa producing bacterial culture on the performance, nutrient use and gut morfology of broiler chicken fed a corn based diet. *Reprod. Nutr. Dev* 1995;35:201-212.
9. Gracia MI, Latorre MA, Garcia M, Lazaro R, Mateos GG. Heat Processing of Barley and Enzyme Supplementation of Diets For Broilers. *Poult Sci* 2003;82:1282-1291.
10. Nitsan Z, Ben-Avraham, Zoref Z and Nir I. Growth and development of digestive organs and some enzymes in broiler chicks after hatching. *Br poultry Sci* 1991;32: 515-523.
11. Sell JL. Physiological limitations and potential for improvement in gastrointestinal tract function of poultry. *J Appl Poult Res* 1996;5:96-105.
12. Roberfroid MB. Concepts and strategy of functional food science: the European perspective. *Am J Clin Nutr* 2000;71(suppl):1660s-1664s.

13. Roberfroid MB. Concepts in Functional Foods: the Case of Inulin and Oligofructose. *J Nutr* 1999;129:1398s-1401s.
14. Roberfroid MB. Inulin-Type Fructans. Functional food ingredients. CRS Series in Modern Nutrition 2005.
15. Frank A. Technological functionality of inulin and oligofructose 2002 (87);Suppl 2:S287-S291.
16. Niness RK. Inulin and oligofructose: What are they?. *J. Nutr.* 1999;129:140S-1406S
17. Bruce G, Schiffrin EJ, Reniero R, Mollet B, Pfeifer A, Neeser J, The Development of functional foods: lessons from the gut. *Trends Microbiol.* 1999;17(12):492-499.
18. Berg RD. Probiotics, prebiotics or conbiotics. *Trends Microbiol* 1998;89(6):89-92.
19. Dunne C. Adaptation of Bacteria to the Intestinal Niche: Probiotics and Gut Disorder. *Inflammatory Bowel Diseases.* 2001 (2):136–145.
20. Wu G. Amino acids: metabolism functions and nutrition. *Amino Acids.* 2009;37:1-17.
21. Wu G, Knabe DA, Free and protein-bound amino acid in sow's colostrums and milk. *J Nutr* 1994;124:415-424.
22. Tapiero, H., Mathe, G., Couvreur, P. and Tew, K. D. Free amino acids in human health and pathologies - II. Glutamine and glutamate. *Biomedicine & Pharmacotherapy* 2002;56:446-457.
23. Newsholme, P., Procopio, J., Lima, M. M. R., Pithon-curi, T. C., Curi, R. 2003a. Glutamine and glutamate-their central role in cell metabolism and function. *Cell Biochemistry and Function* 21:1-9.
24. Wang WW. Qiao SY, Li DF, Amino acids and gut function. *Amino Acids* 2009;105-110.
25. Wu G, Bazer FW, Davis TA, Jaeger LA, Johnson GA, Kim SW, Knabe DA, Meininger CJ, Spencer TE, Yin YL. Important roles for the arginine family of amino acids in swine nutrition and production. *Livest Sci* 2007;112:8-22.
26. Wu G. Intestinal mucosal amino acid catabolism. *J Nutr.* 1998;128:1243-1252.

27. Wu G, Bazer FW, Wallace JM, Spencer TE. Intrauterine growth retardation: Implications for the animal sciences. *J Anim Sci.* 2006;84:2316-2337.
28. Curi TC, Corless M, Newsholme P. Molecular mechanisms of glutamine action. *J Cell Physiol* 2005;204:392-401.
29. Li P, Yin YL, Li DF, Kim SW, Wu G. Amino acids and immune function. *Br J Nutr* 2007;98:237-252.
30. Wu G, Morris SM. 1998. Arginine metabolism: Nitric oxide and beyond. *Biochem J* 1998;336:1-17.
31. Amores SMI, Medina MA. Glutamine, as a precursor of glutathione and oxidative stress. *Mol genet and metabol* 1999;67:100-105.
32. Wu G, Meier SA, Knabe DA. Dietary glutamine supplementation prevents jejunal atrophy in weaned pigs. *J Nutr* 1996;126:2578-2584.
33. Murakami AE, Sakamoto MI, Natali MRM, Souza LMG, Franco JRG. 2007. Supplementation of glutamine and vitamin E on the morphometry of the intestinal mucosa in broiler chicken. *Poultry Sci* 2007;86:488-495.
34. Simon RR. Glutamine and zinc methionine supplementation to dairy calves. MS Thesis, Texas A&M University, College Station, Texas, USA 1999.
35. Sklan D. Development of the digestive tract of poultry. *Poultry Sci J* 2001;57:415-428.
36. Garriga C, Moretó M, Planas JM. Hexose transport across the basolateral membrane of the chicken jejunum. *Am J Physiol (regulatory Integrative Comp Physiol 41)* 1997;272:R1330-R1335.
37. Bartell SM, Batal AB. The Effect of Supplemental Glutamine on Growth performance, development of the Gastrointestinal tract, and humoral Immune Response of Broilers. *Poult Sci* 2007;86:1940–1947.
38. Prabhu R, Balasubramain KA. A novel Method of preparation of small intestinal brush border membrane vesicles by polyethylene glycol precipitation. *Anal biochem.* 2001;289:157-161.
39. Shirazi-Beechey SP, Davies AG, Tebbutt K, Dyer J, Ellis A, Taylor CJ, Fairclough P, Beechey RB. Preparation and properties of brush-border membrane vesicle from human small intestine. *Gastroenterology* 1990;98(3):676-685.
40. Kessler M, Acuto O, Srorelli C, Murer, H, Müller M, Semenza G. Modified procedure for the rapide preparation of efficiently transporting vesicles

- from small intestinal brush border membranes. *Biochim et Acta* 1978;506:136-154.
41. Cano M, Vázquez M, Ilundáin A. Chloride transport in brush-border membrane vesicles from chick jejunum. *Pflügers Archv* 1993;425:395-400.
 42. Torras-Llort M, Soriano-Garcia JF, Ferrer R and Moretó M. Effect of a lysine-enriched diet on lysine transport by the brush-border membrane of the chicken jejunum. *Am J Physiol* 1998;274:R69-R75.
 43. Iji AI, Saki a, Tivey RD. Body and intestinal growth of broiler chicks on a commercial starter diet 3. Development and characteristics of tryptophan transport. *Br Poultry Sci* 2001;42:523-529.
 44. Maenz DD, Classen LH. Phytase activity in the small intestinal brush border membrane of the chicken. *Poult Sci* 1998;77:557-563.
 45. Sanderson IR, Walker WA. Uptake and transport of macromolecules by intestine: possible role in clinical disorders (an update). *Gastroenterology* 1993;104:622-634.
 46. Tiruppathi C, Miyamoto Y, Ganapathy V, Leibach HF, Fatty acid-induced alterations in transport systems of the small intestinal brush-border membrane. *Biochem Pharmacol* 1988;37(suppl 7):1399-1405.
 47. Garcia ME. Modificaciones del sistema de clasificación climática de Copen para adaptarlo a las condiciones de la república Mexicana: talleres off set Larios, 1998.
 48. Davila HR, Caracterización y pureza de vesículas de membrana del borde de cepillo como indicador de la integridad del epitelio intestinal: valoración de dos alimentos funcionales en pollos de engorda (tesis de licenciatura). Distrito Federal (México): Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), 2005.
 49. Dai SF, Wang LK, Wen AY, Wang LX and Jin GM. Dietary glutamine supplementation improves growth performance, meat quality and colour stability of broilers under heat stress. *Br Poutl Sci* 2009;50;Issue 3:333-340.
 50. Dahlqvist A. Method for assay of intestinal disaccharidases. *Anal Biochem* 1964;7:18-25.
 51. Luna, LG. Manual of histological staining methods of Armed Forces Institute of Pathology, 3rd ed. American Registry of Pathology. New York: McGraw-Hill; 1968.
 52. Kuehl RO. Diseño de Experimentos, Principios estadísticos para el diseño y análisis de investigación. 2ª ed. México: Thomson Learning, 2000.

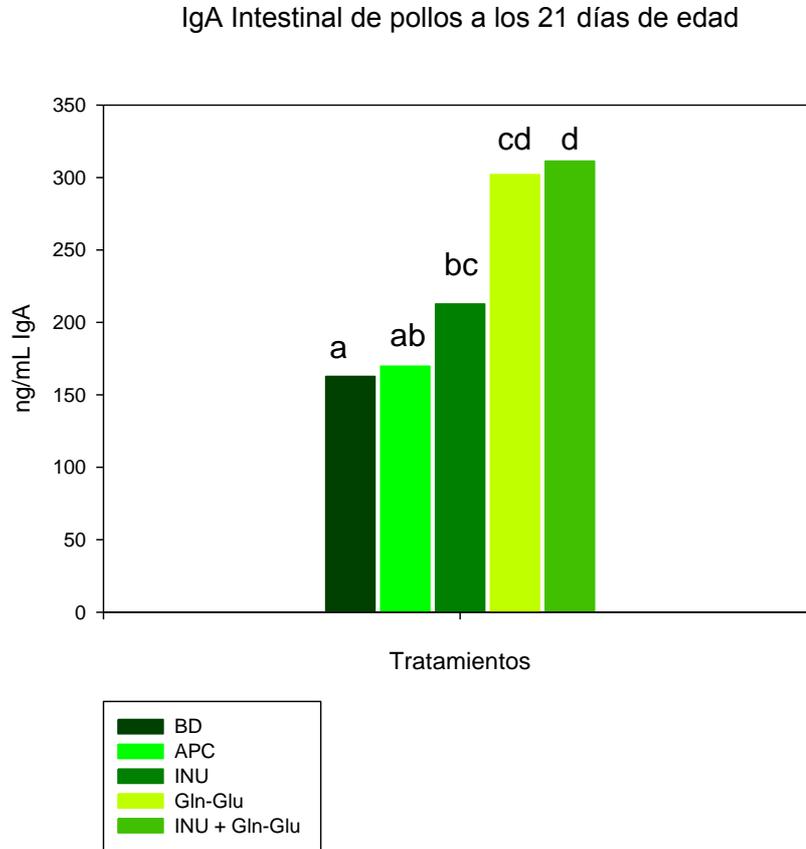
53. Vispo, C, Karasov, W. H. In the interaction of avian gut microbes and their host. An exclusive symbiosis. Gastrointestinal ecosystems and fermentations. Parte I. Nutritional ecology. En: Gastrointestinal microbiology. Eds. L. M. Roderick y A. W. Bryan. Chapman & Hall. EU 1997.
54. Netherwood, T. Gilbert, HJ. Parker, D. S. O'Donnell, A. G: Probiotics shown to change bacterial community structure in the avian gastrointestinal tract. Appl Environmen Microbio, 1999 65, 5134–5138.
55. Patterson, JA, Burkholder KM. Application of prebiotics and probiotics in poultry production. Poult Sci 2003;82:627-631.
56. Xu ZR, Hu CH, Xia MS, Zhan XA, Wang MQ. Effects of dietary fructooligosaccharide on digestive enzyme activities, intestinal microflora and morphology of male broilers. Poult Sci 2003;82:1030-1036.
57. Roberfroid MB, Van Loo JAE, Gibson GR. The bifidogenic nature of chicory inulin and its hydrolysis products. Journal of Nutrition. 1998;128: 11-19.
58. Fukata T, Sasai K, Miyamoto T, Baba F. Inhibitory effects of competitive exclusion and fructooligosacharide, singly and in combination, on Salmonella colonization of chicks. J Food Protect. 1999;62:229-233.
59. Ammerman E, Quarles C and Twining PV. Evaluation of fructooligosaccharides on performance and carcass yield of male broilers. Poult Sci 1989;68 (Suppl. 1): 167 (Abstr.).
60. Yusrizal Y and Chen TC. Effect of adding chicory fructans in feed on broiler growth performance, serum cholesterol and intestinal length. Int. J Poult Sci 2003;2:214-219.
61. Rebolé, A, Ortiz, LT, Rodriguez, ML, Alzueta, C, Treviño, J, Velasco, S. Effects of inulin and enzyme complex, individually or in combination, on growth performance, intestinal microflora, cecal fermentation characteristics, and jejunal histomorphology in broiler chickens fed a wheat- and barley-based diet. Poult Sci 2010;89:276–286.
62. Waldroup AL, Skinner JT, Hierholzer RE, Waldroup PW. An evaluation of fructooligosaccharide in diets for broiler chickens and effects on *salmonella* contamination of carcasses. Poult Sci 1993;72:643-650.
63. Williams J, Mallet S, Lacontem M, Lessire M and Gabriel J. The effects of fructooligosaccharides or whole wheat on the performance and digestive tract of broiler chickens. Br Poult Sci 2008;49:329-339.

64. Biggs P, Parsons CM and Fahey GC. The effects of several oligosaccharides on growth performance, nutrient digestibilities, and cecal microbial populations in young chicks. *Poult Sci.* 2007;86:2327-2336.
65. Rehman H, Rosenkranz C, Bölem J and Zentek J. Dietary inulin affects the morphology but not the sodium dependent glucose and glutamine transport in the jejunum of broilers. *Poult Sci* 2007;86: 118-122.
66. Bartell SM, Batal AB. The effect of supplemental Glutamine on growth performance, development of the gastrointestinal tract, and humoral immune response of broiler. *Poult Sci.* 2007;86:1940-1947
67. Verdonk JM, Shim SB, Van Leeuwen P, Verstegen MW. Application of inulin-type fructans in animal feed and pet food. *Br. J. Nutr.* 2005; Suppl. 1: S125-38.
68. Helton WS, Jacobs DO, Bonner-Weir S, Bueno B, Smith RJ & Wilmore DW. Effects of glutamine-enriched parenteral nutrition on the exocrine pancreas J of Parent and Enter ntr 1990;14:344-352.
69. Salloum E, Flamant F, Rey A, Cahlaud JM, Friedman S, Valteau D & Lemerle J. Rhabdomyosarcoma in infants under one year of age experience of Institute Gustave-Roussy. *Med and Pediatr Oncol.* 1989;17:421-428.
70. Rehman H, Hellweg P, Taras D and Zentek, J. Effects of dietary inulin on the intestinal short-chain fatty acids and microbial ecology in broiler chickens as revealed by denaturing gradient gel electrophoresis. *Poult Sci.* 2008;87: 783-789.
71. Newsholme EA, Crabtree B & Ardawi MSM. The role of high rates of glycolysis and glutamine utilization in rapidly dividing cells. *Bios Report* 1985;79:553-558.
72. Alverdy JA, Aoye E, Weiss-Carrington P & Burke DA. The Effect of glutamine-enriched TPN on gut immune cellularity. *J Surgical Res* 1992;52:34-38.
73. Kumlu M & Jones DA. The effect of live and artificial diets on growth, survival, and trypsin activity in larvae of *penaeus indicus*. *J Aquaculture Society* 1995;26:406-415.

74. Shizuka F, Vasupongsotorn S & Kido Y. Comparative effect of intravenously or intragastrically administered glutamine on small intestinal function of the rat. *Tokushima J Exp Med* 1990;37:19-57.
75. Lin Y & Xiao DA, Dietary glutamine supplementation improves structure and function of intestine of juvenile Jian carp (*Cyprinus carpio* var. Jian.). *Aquaculture* 2006;256:389-391.
76. Alverdy JC, Glutamine supplemented diets on immunology of the gut. *J Parenter Enter Nutr* ;1990;14: 109S–113S.

ANEXO

Gráfica 1



Valores con distinta literal son estadísticamente diferentes ($P < 0.05$).
DB: Dieta Basal; APC: Antibiótico Promotor de Crecimiento; INU: Inulina;
GLn+Glu: Glutamina más Glutamato

Los resultados que se muestran en la Gráfica 1 se observa un incremento en la concentración de IgA en el intestino de los pollos que fueron tratados con Gln-Glu e INU + Gln-Gl a diferencia de los demás tratamientos, presentando una concentración de 302 y 311.35 ng/mL respectivamente, lo que concuerda con Aldervy, 1990; donde dietas con una inclusión del 2% de glutamina es esencial para el mantenimiento del tejido linfoide asociado al intestino, así como para la síntesis y secreción de IgA en el intestino delgado, lo que previene de infecciones bacterianas.⁷⁶