



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**  
**PROGRAMA DE MAESTRÍA EN CIENCIAS DE LA PRODUCCIÓN Y SALUD**  
**ANIMAL**

**EFEECTO DE LA ADICIÓN DE CANTAXANTINA EN LA ALIMENTACIÓN DE**  
**GALLINAS REPRODUCTORAS SEMIPESADAS ISA BROWN Y SU EFECTO**  
**EN LA PROGENIE**

**T E S I S**

**PARA OBTENER EL GRADO DE**  
**MAESTRA EN CIENCIAS**

**PRESENTA**

**PAULA TATIANA CANDELO AGUIRRE**

**Tutor: MVZ. MsC ERNESTO ÁVILA GONZÁLEZ**

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM, CEIEPAv

**Comité tutorial: MVZ. MC. DR ANTONIO DÍAZ CRUZ**

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM, Departamento de Nutrición  
Animal y Bioquímica

**M. DR ENRIQUE PEDERNERA ASTEGIANO**

Facultad de Medicina, 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.

## DEDICATORIA

"Debemos estar dispuestos a librarnos de la vida que planeamos,  
para lograr tener la vida que nos está esperando"

Joseph Campbell.

A mis padres Edgar y María Cristina y mi hermano Nicolás, por ser las personas más importantes en mi vida y por estar conmigo en cada aventura de mi vida.

A Eric por el apoyo incondicional y desinteresado durante todo este tiempo, por todos los buenos momentos y por los que espero falten por compartir.

## **AGRADECIMIENTOS**

Al Centro de enseñanza, investigación y extensión en producción Avícola CEIEPAv y la empresa DSM por las facilidades ofrecidas para la realización de esta investigación.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, por el apoyo económico en el programa de posgrado.

Por todo su apoyo y asesoría brindada durante de investigación, al Dr. Ernesto Ávila González.

Por las observaciones y recomendaciones realizadas, que fueron realmente útiles, al Dr. Antonio Díaz y al Dr. Enrique Pedernera.

Por el apoyo incondicional y las palabras de aliento en todo momento, al Dr. Ezequiel Sanchez y la Dra Elizabeth Posadas.

Por la asesoría técnica para las distintas metodologías realizadas en la fase de laboratorio, al M en C Cuauhtemoc Nava Cuellar.

Por su asesoría en el análisis estadístico de los resultados, al Ing. Jose Lius Pablos, una excelente persona.

Y finalmente, a todas las personas que directa o indirectamente estuvieron presentes en el proceso de investigación y aprendizaje durante este tiempo.

## RESUMEN

Durante el periodo de incubación, el desarrollo embrionario se asocia con una etapa de estrés oxidativo, esta alteración puede ser contrarrestada con el uso de antioxidantes en la dieta materna. Para este estudio se utilizaron 246 gallinas y 30 gallos de la estirpe Isa Brown de 29 semanas de edad, distribuidas completamente al azar en dos tratamientos cada uno con tres repeticiones (dieta control y dieta con adición de 6ppm de cantaxantina (CX)). Las aves fueron alimentadas con dietas con base en sorgo+pasta de soya durante 20 semanas. Se evaluaron los parámetros productivos de las aves (porcentaje de postura, peso de huevo, masa de huevo, consumo de alimento, índice de conversión y porcentaje de huevo incubable), parámetros de incubación, parámetros productivos de los pollos nacidos y se realizaron pruebas de estrés oxidativo. Los datos de los parámetros productivos de las gallinas se analizaron mediante un análisis de perfiles, el restante de los datos mediante un diseño completamente aleatorizado. En las variables productivas de las aves no se presentaron diferencias ( $P>0.05$ ) para los factores tratamiento y tiempo; sin embargo, se observó 3.4% más de huevos incubables en aves que recibieron la dieta experimental ( $P<0.05$ ). Durante la incubación, mejoró 9% el porcentaje de incubabilidad en huevos de gallinas con adición de CX ( $P<0.05$ ). No se observó diferencia estadística en las variables evaluadas durante la primera semana de vida de pollos ( $P>0.05$ ). La capacidad antioxidante (CAO), lipoperoxidación (LPO) y total de vitamina C, se midieron en el hígado de embriones y pollos descendientes de las reproductoras. La adición de CX aumento la CAO ( $P<0.05$ ) y disminuyó la LPO en embriones de 18 días de desarrollo. En aves posteclosión se evidenció un descenso en la CAO ( $P<0.05$ ), sin embargo la LPO fue menor ( $P<0.05$ ) respecto al tratamiento control. Los resultados observados en pollos de 7 días de edad muestran un aumento en la CAO ( $P<0.05$ ) al igual que en la LPO ( $P<0.05$ ). El total de vitamina C mostró diferencias significativas entre tratamientos ( $P<0.05$ ). Este proyecto fue financiado por PAPIIT-UNAM: IT222611.

**Palabras clave:** Cantaxantina, reproductora, capacidad antioxidante total (FRAP), lipoperoxidación (TBARS).

## ABSTRACT

During the incubation period, the embryonic development stage is associated with oxidative stress, this change can be counteracted with the use of antioxidants in the maternal diet. For this study 246 hens and 30 roosters Isa Brown breed 29 weeks of age were used, completely random distributed into two treatments each with three replicates (control diet and diet with addition of 6 ppm canthaxanthin (CX)). Birds were fed diets based on sorghum + soybean meal for 20 weeks. Productive performance of poultry (laying rate, egg weight, egg mass, feed intake, feed conversion and percentage of hatching eggs), incubation parameters, production parameters hatched chicks were evaluated and tests were performed oxidative stress. The data for the production parameters of hens were analyzed by profile analysis, the remaining data using a completely randomi design. In poultry production did not were differences ( $P > 0.05$ ) for treatment and time factors; however, 3.4% more eggs hatching in birds receiving the experimental diet ( $P < 0.05$ ) was observed. During incubation, improved 9% the percentage of hatchability in chicken eggs added CX ( $P < 0.05$ ). No statistical difference were observed in the variables assessed during the first week of life of chickens ( $P > 0.05$ ). The antioxidant capability (CAO), lipid peroxidation (LPO) and total vitamin C, measured in the liver of embryos and offspring of the breeding chickens. The addition of CX CAO increase ( $P < 0.05$ ) and decreased LPO in embryos 18 days of development. Posthatching birds showed a decrease of CAO ( $P < 0.05$ ), but the LPO was lower ( $P < 0.05$ ) compared to control treatment. The results observed in chickens 7 days of age show an increase in CAO ( $P < 0.05$ ) as in the LPO ( $P < 0.05$ ). The total vitamin C showed significant differences between treatments ( $P < 0.05$ ). This project was funded by PAPIIT-UNAM: IT222611.

**Keywords:** Canthaxanthin, spawning, total antioxidant capacity (FRAP), lipid peroxidation (TBARS).

# CONTENIDO

<b>1. INTRODUCCIÓN</b>	1
<b>2. REVISIÓN DE LITERATURA</b>	3
2.1 Especies Reactivas de Oxígeno (ERO's)	3
2.2 Antioxidantes	6
2.3 Estrés oxidativo: Generalidades	10
2.4 Estrés oxidativo: En el embrión	13
2.5 Cantaxantina: Generalidades	14
<b>3. OBJETIVOS</b>	18
<b>4. HIPÓTESIS</b>	19
<b>5. MATERIALES Y MÉTODOS</b>	20
5.1 Localización	20
5.2 Animales y tratamientos	20
5.3 Parámetros a evaluar	21
5.4 Análisis estadístico	26
<b>6. RESULTADOS</b>	32
6.1 Variables productivas	32
6.2 Calidad de huevo	33
6.3 Incubación	34
6.4 Primera semana de los pollos	36
6.5 Pruebas de estrés oxidativo	39
<b>7. DISCUSIÓN</b>	42
7.1 Parámetros productivos	42
7.2 Calidad de huevo	42
7.3 Incubación	43
7.4 Primera semana de los pollos	46
7.5 Pruebas de estrés oxidativo	48
<b>8. CONCLUSIONES</b>	52
<b>9. REFERENCIAS</b>	53

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> La toxicidad del O <sub>2</sub> se explica debido a la formación de las ERO'S. ....	4
<b>Figura 2.</b> Sistema antioxidante en el huevo. ....	8
<b>Figura 3.</b> Esquema de lipoperoxidación. ....	12
<b>Figura 4.</b> Regeneración de la vitamina E por la vitamina C. ....	13
<b>Figura 5.</b> Estructura de la cantaxantina. ....	15
<b>Figura 6.</b> Porcentaje de producción obtenidos durante las semanas 1, 5, 10, 15 y 30 de experimentación. ....	62
<b>Figura 7.</b> Peso de huevo durante las semanas 1, 5, 10, 15 y 30 de experimentación. ....	62
<b>Figura 8.</b> Masa de huevo obtenida durante las semanas 1, 5, 10, 15 y 30 de experimentación. ....	63
<b>Figura 9.</b> Consumo de alimento obtenido durante las semanas 1, 5, 10, 15 y 30 de experimentación. ....	63
<b>Figura 10.</b> Índice de conversión alimenticia obtenido durante las semanas 1, 5, 10, 15 y 30 de experimentación. ....	64
<b>Figura 11.</b> Porcentaje de huevo incubable obtenido durante las semanas 1, 5, 10, 15 y 30 de experimentación. ....	64
<b>Figura 12.</b> Perfiles de las variables de calidad de huevo, grosor de cascarón (A), unidades Haugh (B) y color rojo de la yema (C) realizado durante las semanas 7, 14 y 20 de experimentación en gallinas reproductoras Isa Brown. ....	65
<b>Figura 13.</b> Capacidad antioxidante total en hígados de embriones de 18 días y pollos de 1 y 7 días posteclosión, provenientes de gallinas reproductoras Isa Brown. ....	65
<b>Figura 14.</b> Lipoperoxidación en hígados de embriones de 18 días y pollos de 1 y 7 días posteclosión, provenientes de gallinas reproductoras Isa Brown. ....	66
<b>Figura 15.</b> Ácido ascórbico en hígados de embriones de 18 días y pollos de 1 y 7 días posteclosión, provenientes de gallinas reproductoras Isa Brown. ....	66



## LISTA DE CUADROS

<b>Cuadro 1.</b> Composición de la dieta basal empleada en la alimentación de gallinas reproductoras.....	67
<b>Cuadro 2.</b> Composición química de la dieta basal empleada en la alimentación de gallinas reproductoras.....	68
<b>Cuadro 3.</b> Composición de las premezclas de vitaminas y minerales empleadas en las dietas de las reproductoras por tonelada de alimento.....	69
<b>Cuadro 4.</b> Resultados promedios de las variables productivas de gallinas reproductoras semipesadas Isa Brown.....	70
<b>Cuadro 5.</b> Resultados promedios de las variables de calidad de huevo de gallinas reproductoras semipesadas Isa Brown.....	70
<b>Cuadro 6.</b> Resultados promedios de las variables evaluadas durante la incubación de huevos provenientes de gallinas reproductoras Isa Brown.....	71
<b>Cuadro 7.</b> Color y peso del hígado y saco vitelino de embriones de 18 días de incubación provenientes de gallinas reproductoras Isa Brown.....	71
<b>Cuadro 8.</b> Resultados promedios del comportamiento de las aves evaluadas durante la primera semana de vida de pollos provenientes de gallinas reproductoras Isa Brown.....	72
<b>Cuadro 9.</b> Color y peso del hígado y saco vitelino de pollos de 1 día de edad provenientes de gallinas reproductoras Isa Brown.....	72
<b>Cuadro 10.</b> Color y peso del hígado en pollos de 7 días provenientes de gallinas reproductoras Isa Brown.....	73
<b>Cuadro 11.</b> Capacidad antioxidante total en hígados de embriones de 18 días y pollos de 1 y 7 días posteclosión, provenientes de gallinas reproductoras Isa Brown.....	74
<b>Cuadro 12.</b> Lipoperoxidación en hígados de embriones de 18 días y pollos de 1 y 7 días posteclosión, provenientes de gallinas reproductoras Isa Brown.....	74

**Cuadro 13.** Correlación entre la capacidad antioxidante total, lipoperoxidación y vitamina C en hígados de pollos, descendiente de gallinas reproductoras Isa Brown.....75

**Cuadro 14.** Total de ácido ascórbico en hígados de embriones de 18 días y pollos de 1 y 7 días posteclosión, provenientes de gallinas reproductoras Isa Brown .....76

## ABREVIATURAS

$\cdot\text{OH}$	Radical hidroxilo
$^1\text{O}_2$	Oxígeno singulete
25-(OH)-D <sub>3</sub>	25-hidroxicolecalciferol
A*	Amarillamiento
A $\cdot$	Radical ascorbilo
ADN	Ácido desoxirribonucleico
ANDEVA	Análisis de varianza
AO	Antioxidante
ASC	Ascorbato
ASCH <sub>2</sub>	Vitamina C
ATP	Adenosin trifosfato
B*	Enrojecimiento
CAO	Capacidad Antioxidante
CAR	Carotenoide
CAR <sup>++</sup>	Radical carotenoide
CAT	Catalasa
CEIEPAV	Centro de enseñanza, investigación y extensión en producción avícola
CieLab	Espacios de color
CME	Cuadrado medio del error
Cu	Cobre
Cw	Clima subhúmedo
CX	Cantaxantina
ERO $\cdot$ S	Especies Reactivas de Oxígeno
Fe	Hierro
FeCl <sub>3</sub>	Cloruro férrico hexahidrato
FMVZ	Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia
FRAP	Poder antioxidante por reducción férrica
GPx	Glutación peroxidasa
GSH	Glutación
H <sub>2</sub> O	Agua
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Peróxido de hidrógeno
HCl	Ácido clorhídrico
HO <sub>2</sub> $\cdot$	Radical hidroperoxilo
L*	Luminosidad
L $\cdot$	Radical Lipídico
LOO $\cdot$	Radical Lipoperóxido
LOOH	Lipoperóxidos
LPO	Lipoperoxidación
MANOVA	Análisis de varianza Multivariado

<b>MDA</b>	Malondialdehído
<b>NADPH</b>	Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato reducida
<b>NO<sup>•</sup></b>	Óxido nitroso
<b>NO<sub>2</sub><sup>•</sup></b>	Radical dióxido de nitrógeno
<b>O<sub>2</sub></b>	Oxígeno
<b>O<sub>2</sub><sup>•-</sup></b>	Anión superóxido
<b>OH<sup>•</sup></b>	Ión hidroxilo
<b>ONOO<sup>-</sup></b>	Peroxinitrito
<b>ppm</b>	Partes por millón
<b>PUFAS</b>	Ácidos grasos poliinsaturados
<b>REDOX</b>	Óxido-Reducción
<b>RL</b>	Radical libre
<b>ROO<sup>•</sup></b>	Peróxidos lipídicos
<b>SOD</b>	Superóxido Disminutasa
<b>TBA</b>	Ácido tiobarbitúrico
<b>TBARS</b>	Sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico
<b>TEP</b>	1,1,3,3, tetraethoxpropane
<b>TOH</b>	Vitamina E
<b>TOH<sup>++</sup></b>	Radical Tocoferilo
<b>TPTZ</b>	2,4,6-tripiridil-s-triazina
<b>X<sup>•</sup></b>	Antioxidante de bajo peso molecular
<b>α-toc<sup>•</sup></b>	Radical alfa tocoferilo

# 1. INTRODUCCIÓN

Los nutrientes presentes en la dieta de gallinas reproductoras van dirigidos principalmente a la producción del huevo fértil, siendo éste, uno de los aspectos más importantes de la cadena de producción de pollos y pollas (Fasenko, 2006). Con el consumo del alimento, inicia una serie sincronizada de eventos fisiológicos y metabólicos que producen un pollito viable (Moran, 2007).

El desarrollo embrionario está asociado con una alta concentración de ácidos grasos poliinsaturados (PUFAs), en el último tercio de la incubación (Galobart *et al.*, 2001; Surai *et al.*, 2010). Durante el proceso, los embriones están expuestos a altas tasas de oxígeno atmosférico, lo que los hace susceptibles a la oxidación, lo que resulta en la formación de productos tóxicos y reacciones en cadena como la lipoperoxidación (Rocha *et al.*, 2010).

Todas las células, dependen de su capacidad antioxidante funcional para proporcionar protección contra los efectos nocivos de los radicales libres y especies reactivas de oxígeno que son consecuencias inevitables de la vida aeróbica. Con el fin de lograr una protección óptima, los tejidos poseen un sistema antioxidante integrado de diversas moléculas como la vitamina E, los carotenoides, el ácido ascórbico, el glutatión, las enzimas glutatión peroxidasa, la superóxido dismutasa y la catalasa (McLean *et al.*, 2005), que ayudan a controlar el daño causado por los radicales libres en las células (Rosa *et al.*, 2012).

Los carotenoides son pigmentos con un papel biológico importante (Sánchez *et al.*, 1999). Actualmente, la industria avícola emplea suplementos como carotenoides en la alimentación de gallinas principalmente por su acción pigmentante, con el objetivo de modular el color de la yema (Surai y Speake, 1998). Sin embargo, estudios recientes (Surai, 2012a; Surai, 2012b; Surai, 2012c; Rocha *et al.*, 2010) han evaluado los posibles efectos de la suplementación

materna con carotenoides, en función de brindar protección antioxidante contra los efectos nocivos que producen los radicales libres y las especies reactivas de oxígeno en el huevo y desarrollo del embrión.

## 2. REVISIÓN DE LITERATURA

### 2.1 Especies Reactivas de Oxígeno (ERO's)

En la vida de los organismos aerobios, alrededor del 85-90% del oxígeno consumido por los animales, es utilizado por la mitocondria para la síntesis de ATP (Halliwell y Gutteridge, 1999). El oxígeno es esencial para la vida, pero posee una paradoja en los organismos aerobios. Este elemento, desempeña una función importante como aceptor terminal de electrones durante la respiración celular, y constituye lo que se conoce como el soporte de la vida (Pérez y Pérez, 2002); pero también es el punto de partida para un tipo de daño celular, ocasionado por la producción de radicales libres durante la fosforilación oxidativa, ello hace que las células mantengan una alta concentración de productos oxidantes del metabolismo (Quintanar y Calderón, 2009).

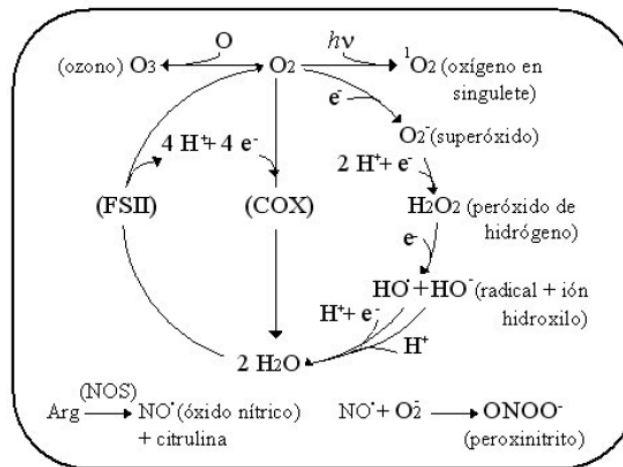
Un radical libre (RL), es un átomo o molécula que tiene uno o más electrones desapareados en sus orbitales externos y es capaz de tener una existencia independiente (Halliwell y Chirico, 1993; Halliwell y Gutteridge, 1999; Quintanar y Calderón, 2009; Hansberg, 2002). Sin embargo, es muy reactivo ya que tiende a reducirse, es decir, sustrae un electrón de átomos o moléculas vecinas (lípidos, proteínas y ADN) a las cuales oxida, con el fin de alcanzar su propia estabilidad (Quintanar y Calderón, 2009).

Se han identificado como RL al anión superóxido ( $O_2^{\cdot-}$ ), el radical hidroperoxilo ( $HO_2^{\cdot}$ ), el radical hidroxilo ( $\cdot OH$ ) y el radical dióxido de nitrógeno ( $NO_2^{\cdot}$ ); sin embargo, estos no suelen tener gran reactividad (Chihuilaf *et al.*, 2002; Quintanar y Calderón, 2009; Hansberg, 2002).

Por otro lado, existe un grupo de moléculas derivadas del oxígeno, que fisicoquímicamente no son radicales libres, pero que también contribuyen a la formación de radicales libres durante su metabolismo, como el oxígeno singulete

( $^1\text{O}_2$ ) y peróxido de hidrógeno ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ). También el oxígeno forma compuestos con el nitrógeno, como son el monóxido de nitrógeno u óxido nítrico ( $\text{NO}^\bullet$ ), el dióxido de nitrógeno ( $\text{NO}_2^\bullet$ ) y el peroxinitrito ( $\text{ONOO}^-$ ) (Konigsberg, 2008).

Al grupo de moléculas propiamente dicho RL y al grupo que las produce durante su metabolismo, se les identifica genéricamente como Especies Reactivas del Oxígeno (ERO's) (Figura 1). La producción de RL's en el rango fisiológico poseen efectos benéficos, pero más allá de la concentración basal, son tóxicas por el daño que provocan en las moléculas biológicas (Carreras, 2004).



**Figura 1.** La toxicidad del  $\text{O}_2$  se explica debido a la formación de las ERO'S.

**Fuente:** Hansberg (2002)

En los organismos vivos, las ERO'S tienen orígenes endógenos y exógenos. El primer grupo, abarca a los RL generados intracelularmente y que actúan tanto dentro como fuera de la célula. Su producción, natural o accidental, se localiza en cuatro fuentes claramente definidas:

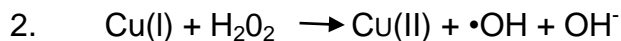
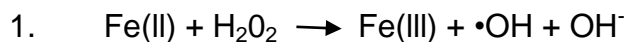
- Durante el proceso de respiración, el oxígeno es transportado por la hemoglobina hasta llegar a las células y es empleado como aceptor final en la respiración mitocondrial. La función del oxígeno, es recibir los electrones provenientes de la cadena respiratoria para formar agua metabólica como



producto de la oxidación de la glucosa. Sin embargo, alrededor del 1-2% de los electrones se desprenden de los complejos I, II y III, llevándose a cabo la reducción de un electrón de oxígeno a superóxido (Chihuailaf *et al.*, 2002; Konigsberg, 2008; Mathews *et al.*, 2002).

- b) Los peroxisomas que contienen acil coA oxidasa, dopamina b-hidroxisilasa, urato oxidasa y otras generan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> como producto intermedio.
- c) El sistema enzimático citocromo P-450, constituye una defensa primaria contra varios xenobióticos (compuestos que no son propios) y sustancias endógenas que aumentan la producción de RL superóxido (Chihuailaf *et al.*, 2002; Mathews *et al.*, 2002).
- d) El O<sub>2</sub><sup>•-</sup> es producido cuando los fagocitos (monocitos, neutrófilos y macrófagos), destruyen células infectadas con bacterias o virus, mediante una descarga oxidante compuesta básicamente por el peróxido de hidrógeno, hipoclorito y óxido nítrico, además del anión superóxido (Chihuailaf *et al.*, 2002).

Para inactivar al O<sub>2</sub><sup>•-</sup> las células, lo dismutan en peróxido de hidrógeno mediante acción enzimática. El H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> y los metales de transición oxido-reductores (Redox) activos, Fe(II) y Cu(I), participan en la reacción de Fenton. El OH<sup>-</sup> y el <sup>•</sup>OH se forman en esta reacción como se muestra en las reacciones 1 y 2 (Mathews *et al.*, 2002; Nava, 2011):



De todas las especies reducidas del oxígeno, sin duda, la más dañina es el <sup>•</sup>OH. Su alta toxicidad se debe a que posee una vida muy corta (10<sup>-9</sup> segundos) y por lo tanto, una alta reactividad, que le permite interactuar con todo tipo de sustratos. En cambio, otras especies, como el H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, son más estables, por lo que puede difundir a través de las membranas celulares (Montero, 1996).

El  $\cdot\text{OH}$ , al actuar sobre los lípidos, conduce a un proceso de peroxidación lipídica a nivel de las membranas, en las proteínas, da lugar a la oxidación de los aminoácidos modificando su vida media, en el ADN, causa ruptura de las hebras y modificación en las bases del ADN (Mathews *et al.*, 2002; Montero, 1996; Montgomery *et al.*, 2012).

## 2.2 Antioxidantes

Dado que las ERO's se producen constantemente durante los procesos metabólicos, la célula ha desarrollado un poderoso y complejo sistema de protección para limitar la exposición a estos agentes el cual reciben el nombre de antioxidante (AO) (Chihuailaf *et al.*, 2002; Montero, 1996; Pérez y Pérez, 2002; Venereo, 2002). Este sistema protector se compone de enzimas o nutrientes esenciales, es decir aquel compuesto que debe ser ingerido porque el organismo no es capaz de sintetizarlo; cuya función es retrasar o prevenir la formación descontrolada de RL, inhibir la reacción de los RL con estructuras biológicas, capturar aquellos que se han formado y remover o reparar las biomoléculas dañadas (Chihuailaf *et al.*, 2002).

Los AO donan electrones para prevenir o retrasar la oxidación de las ERO's y pueden actuar en las siguientes formas (Dorado *et al.*, 2003):

1. Evitando la iniciación de la reacción en cadena al "barrer" (cubrir o detener una reactividad química muy alta), los primeros radicales libres que se forman.
2. Uniéndose a iones metálicos para evitar la formación de especies reactivas.
3. Transformando los peróxidos en productos menos reactivos.
4. Deteniendo la propagación y el aumento de radicales libres.

## Clasificación de los AO

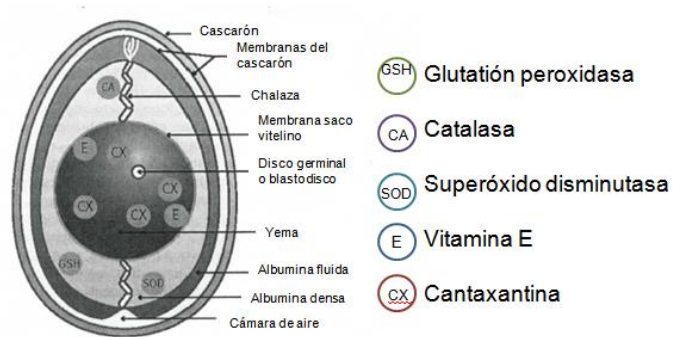
Algunos autores, clasifican los AO como no enzimáticos y enzimáticos (Carreras, 2004; Chihuilaf *et al.*, 2002; García *et al.*, 2001; Halliwell y Gutteridge, 1999). No obstante, otro criterio de clasificación comúnmente empleado se basa en el mecanismo mediante el cual los AO ejercen su acción protectora, agrupándolos en aquellos que cumplen una función preventiva en la formación de los RL y en aquellos que interceptan o capturan los que ya se han producido (Carreras, 2004; Chihuilaf *et al.*, 2002; Halliwell y Gutteridge, 1999). También es posible clasificarlos conforme a su localización, ya sea en intra o extracelulares (Venereo, 2002).

El grupo de AO enzimáticos cataliza la transferencia de electrones desde un sustrato hacia los RL's. Las enzimas involucradas en este proceso incluyen la superóxido dismutasa (SOD) cataliza la dismutación del  $O_2^{\cdot-}$  a  $H_2O_2$ ; la glutatión peroxidasa (GPx) que es una enzima dependiente de selenio y cataliza la reducción del  $H_2O_2$  o lipoperóxidos (LOOH) a  $H_2O$ ; y la catalasa (CAT) que reduce el  $H_2O_2$  a  $H_2O$  y  $O_2$  (Konigsberg, 2008; Quintanar y Calderón, 2009; Rocha *et al.*, 2010).

Los AO no enzimáticos, constituyen un heterogéneo grupo de moléculas hidrófobas e hidrófilas que captura RL's y originan especies químicas menos nocivas para la integridad celular. En esencia, el mecanismo de acción involucrado es la donación de un electrón a un RL con el fin de estabilizarlo. Los AO no enzimáticos hidrofílicos se ubican principalmente en el citosol, matriz mitocondrial y nuclear y en fluidos extracelulares; éstos incluyen: vitamina C que neutraliza el  $O_2^{\cdot-}$ , captura radicales hidroxilos y regenera la forma oxidada de vitamina E (Ramos *et al.*, 2006); Glutatión que reduce  $H_2O_2$  a  $H_2O$ ; Flavonoides polifenólicos que retiran  $O_2^{\cdot-}$ ,  $OH\cdot$  y peróxidos lipídicos ( $ROO\cdot$ ); Carotenoides que neutralizan el  $O_2^{\cdot-}$  (Chihuilaf *et al.*, 2002; Halliwell y Gutteridge, 1999) y Vitamina E que actúa

como neutralizador  $O_2^{\cdot-}$  y secuestrador de especies reactivas de oxígeno y nitrógeno (Ramos *et al.*, 2006). Los antioxidantes exógenos, se oxidan al neutralizar al radical libre, por lo que la reposición de ellos debe ser continua, mediante la ingestión de los nutrientes que los contienen (Venereo, 2002; Institute of Medicine, 2000).

El huevo de gallina consta de yema, albúmina y cáscara. La mayoría de los lípidos, se encuentran en la yema y es allí donde se localizan una serie de antioxidantes solubles en grasa. La acción antioxidante para el embrión esta ofrecida principalmente por la Vitamina E y los carotenoides; compuestos solubles en agua como es el caso de la vitamina C no se acumulan en la yema. Otros compuestos que poseen actividades antioxidantes como la coenzima Q, GPx, SOD, están presentes en el huevo sólo en concentraciones muy bajas y por lo tanto juegan un papel menor (Figura 2) (Surai, 2012a). Karadas *et al.* (2011) indican que el sistema antioxidante del ave, se basa en interacciones de los diversos antioxidantes y que los carotenoides son una parte esencial de ese sistema.



**Figura 2.** Sistema antioxidante en el huevo.

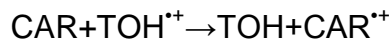
**Fuente:** Adaptado de Surai (2012a).

## Mecanismo de acción de los antioxidantes

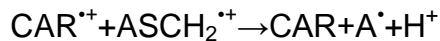
La ingestión de nutrientes con propiedades antioxidantes, tales como vitamina E, C y carotenoides, ayudan al sistema de defensa enzimático a controlar los daños causados por los radicales libres en las células. En la membrana celular el AO de mayor importancia es el  $\alpha$ -tocoferol ó vitamina E por ser donador de su átomo de hidrógeno (Rocha *et al.*, 2010), mientras que en citosol la vitamina C juega un papel fundamental (McLean *et al.*, 2005).

- Sinergismo de los carotenoides y las vitaminas C y E (Rocha *et al.*, 2010; Konigsberg, 2008).

Las moléculas antioxidantes pueden actuar de modo sinérgico, formando una barrera contra la oxidación. En el mecanismo de interacción entre los carotenoides, la vitamina E y C, la molécula de carotenoide elimina al radical de la vitamina E o radical tocoferilo ( $\text{TOH}^{\bullet}$ ), resultando en la formación del radical carotenoide, de esta forma los carotenoides ayudan a reciclar la vitamina E, tal como se observa en la siguiente reacción:

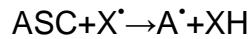


El paso siguiente de la reacción anterior es la eliminación del radical carotenoide, por la acción de la vitamina C ( $\text{ASCH}_2$ ) la cual es transformada en radical ascorbilo ( $\text{A}^{\bullet}$ ), tal como se observa en la reacción:



La regeneración de la molécula de ascorbato (ASC) a partir de radical ascorbilo se da por procesos de reducción por acción de enzimas dependientes de NADPH y GSH.

Otro mecanismo AO propuesto para el ASC, se asocia con la capacidad de regenerar AO de bajo peso molecular (X) como  $\alpha$ -tocoferol, GSH y  $\beta$ -caroteno, tal como se muestra en la reacción:



### **2.3 Estrés oxidativo: Generalidades**

La generación de RL y la defensa AO se encuentran en equilibrio; al romperse este equilibrio se crea una situación llamada estrés oxidativo (Surai, 2010; Metcalfe y Monaghan., 2013), que puede producir daño celular, desencadenar trastornos fisiológicos y favorecer la presentación de procesos patológicos (Chihuilaf *et al.*, 2002; Dorado *et al.*, 2003).

El "estrés oxidativo" puede provenir de: 1. Una deficiencia del sistema de defensa antioxidante; 2. Un incremento de la formación de ERO'S, cuya alta reactividad puede provocar: peroxidación lipídica, daño de la membrana celular, rotura del ADN, degradación proteica (Pérez y Pérez, 2002).

El daño por estrés oxidativo, puede ser reversible o irreversible dependiendo de factores como el tiempo que dure el estrés oxidativo, la efectividad de las defensas antioxidantes, la edad del organismo, el estado nutricional y factores genéticos que codifican sistemas antioxidantes (Dorado *et al.*, 2003).

#### **Oxidación lipídica**

La susceptibilidad de los ácidos grasos, a los procesos oxidativos depende del número de insaturaciones de éstos y parece ser que aumenta de forma exponencial con la presencia de dobles enlaces en la molécula (Carreras, 2004).

La lipoperoxidación (LPO) es un proceso autocatalítico y de propagación (Konigsberg, 2008). Es altamente destructiva, se desarrolla una reacción en

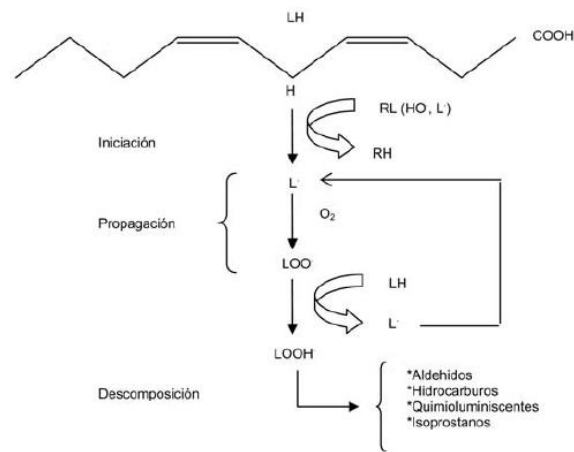
cadena de radicales libres que se da en tres etapas; iniciación, propagación y terminación. Mediante esta reacción en cadena, un radical puede inducir la oxidación de un número elevado de moléculas de sustrato (Carreras, 2004; Chihuailaf *et al.*, 2002).

La oxidación de los lípidos de las membranas provocan pérdidas de la permeabilidad, la fluidez, la integridad de las membranas (la plasmática y de los orgánulos celulares), así como la actividad de enzimas, proteínas, receptores o canales iónicos que comprometen la estructura y función celular. Los PUFAs de las membranas celulares y las lipoproteínas son particularmente susceptibles al ataque del radical hidroxilo, del oxígeno singulete y del hidroperoxilo, esto debido a los dobles enlaces conjugados que presentan (Chihuailaf *et al.*, 2002; Konigsberg, 2008).

La LPO se inicia cuando las ERO's atacan un PUFA y abstrae un átomo de hidrógeno de un grupo metileno adyacente al doble enlace, para formar el RL acilácido graso. De esta forma, el RL se estabiliza y el ácido graso se convierte en un radical lipídico (L.). Si se está en presencia de  $O^2$ , esta molécula es adicionada al L', formando un radical lipoperoxilo ( $LOO^*$ ) el cual tiene poder oxidante para atraer un hidrogeno metilénico del ácido graso adjunto para quedar como lipoperóxido (LOOH). En la etapa de propagación el LOOH abstrae un hidrógeno del PUFA, estableciéndose una reacción en cadena, este a su vez puede reaccionar con otros ácidos grasos de la membrana, formando otros radicales lipídicos, transformándose el mismo en hidroperoxido. El hidroperoxido, en presencia de varios complejos metálicos, se puede descomponer en más radicales, incluyendo entre ellos al  $OH^*$ , lo anterior se conoce como cadena lipoperoxidativa y es la que va a producir la oxidación progresiva (Chihuailaf *et al.*, 2002; Konigsberg, 2008; Carreras, 2004).

La etapa de terminación consiste en la unión del L reacciona, con otro L o una molécula para formar productos no radicales. Sin embargo, en ausencia de iones

metálicos los hidroperóxidos se pueden acumular en la membrana y con esto alterar su función. También se pueden transformar en hidrocarburos volátiles, alcoholes o aldehídos (malondialdehído (MDA), hexanal y el 4-hidroxinonenal (4-HNE)), los cuales pueden difundir lejos del lugar donde se originaron, ocasionando daños a otras macromoléculas (Figura 3) (Chihuailaf *et al.*, 2002; Quintanar y Calderón, 2009; Carreras, 2004).



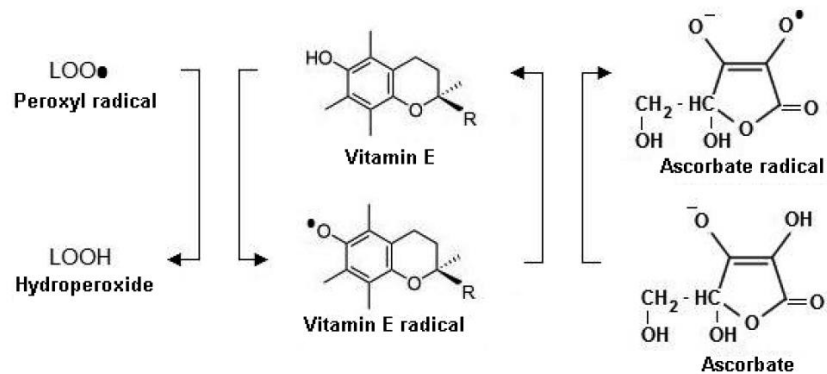
**Figura 3.** Esquema de lipoperoxidación.

**Fuente:** Fellenber (2008).

Una de las moléculas de gran importancia en la protección de la membrana celular es la vitamina E, ya que reacciona con el LOO· para formar el radical  $\alpha$ -tocoferilo, el electrón desapareado se deslocaliza sobre el anillo aromático, lo que hace que sea insuficientemente reactivo para atraer al hidrogeno del grupo metileno de los PUFAs presentes en los fosfolípidos de las membranas. Es por esta razón que la reacción en cadena se detiene y el radical  $\alpha$ -tocoferilo ( $\alpha$ -toc·), actúa como agente terminal (Konigsberg, 2008).

Este radical ( $\alpha$ -toc·) migra a la superficie de la membrana, para ser reducido por la vitamina C. El resultado de esta interacción es la formación de radicales de ascorbato (Figura 4). Las vitaminas E y C radicales no son reactivas, porque sus electrones no apareados son energéticamente estable (Rocha *et al.*, 2010).





**Figura 4.** Regeneración de la vitamina E por la vitamina C.

**Fuente:** Rocha *et al* (2010).

## 2.4 Estrés oxidativo: En el embrión

Durante el periodo de incubación, el desarrollo embrionario se asocia con una etapa de estrés oxidativo debido a la exposición al oxígeno atmosférico (Rosa *et al.*, 2012), un aumento en la tasa de metabolismo para la obtención de energía, las fluctuaciones de temperatura, humedad y concentración de dióxido de carbono, afectan negativamente al embrión provocando oxidación y fosforilación en los tejidos, que conducen a la producción de radicales libres. El día 19 del desarrollo embrionario es un punto de riesgo dado que la LPO es muy alta, en esta etapa los tejidos presentan niveles altos de PUFAs y la disponibilidad de oxígeno aumenta. Al mismo tiempo, las reservas de AO naturales no han alcanzado un nivel suficiente para la protección total del embrión (Surai, 2012c).

La protección antioxidante en el momento de la eclosión es un factor importante para la viabilidad del ave durante los primeros días de vida. Durante la eclosión y dependiendo de la ventana de nacimiento (es decir, el tiempo transcurrido desde que nace el primero hasta el último pollito), son diversas las horas que pasan los pollos dentro de las incubadoras (496-510h) con humedad y temperaturas altas lo que pone presión sobre la capacidad de defensa del sistema antioxidante.

Además, cualquier retraso en el alimento y/o de agua, después de la eclosión por lo general afecta negativamente el rendimiento del ave y se produce un retraso en la maduración de los sistemas enzimáticos que controlan el metabolismo, los sistemas de protección antioxidante y comienza la producción de radicales libres (Karadas *et al.*, 2011; Rosa *et al.*, 2012; Surai, 2012c).

## 2.5 Cantaxantina: Generalidades

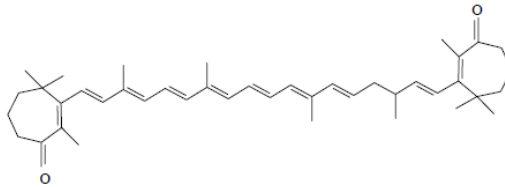
Los carotenoides o tetraterpenoides son una clase de pigmentos lipídicos con 40 átomos de carbono (Karadas *et al.*, 2005a; Martínez, 2003; Meléndez *et al.*, 2007), se encuentran de forma natural en plantas, algas y distintos microorganismos, hasta el punto que se han identificado más de 750 distintos en forma de rojos, naranjas y amarillo (Karadas *et al.*, 2005b; Zhang *et al.*, 2011; Sánchez *et al.*, 1999).

Los carotenoides se clasifican en dos grupos; carotenos y xantofilas. Los carotenos no polares solo contienen carbono e hidrógeno como  $\beta$ -caroteno y el licopeno (Martínez, 2003), estos se pueden encontrar en el interior de las membranas y en el núcleo hidrófobo de las lipoproteínas que los transportan, por lo que su transferencia se realiza a una velocidad menor (Meléndez, 2007; Shih *et al.*, 2008).

Las xantofilas polares contienen además oxígeno y son denominadas con sufijo INA como es el caso de la luteína y la cantaxantina (Martínez, 2003), pueden encontrarse en la membrana en la parte interior o en la porción hidrófila de las moléculas, resultando en una transferencia a velocidad mayor (Meléndez, 2007; Shih *et al.*, 2008).

La cantaxantina (CX) ( **$\beta$ ,  $\beta$ -caroteno-4, 4'-diona**), está formada por ocho unidades de isoprenos invertidos en el centro de la molécula y dos anillos con sustituyentes oxígeno (Figura 5) (Naranjo, 2002; Sánchez *et al.*, 1999). La CX por

ser uno de los carotenos altamente oxigenados, funciona como antioxidantes inhibiendo daños oxidativos de radicales libres en los tejidos del embrión (Karadas *et al.*, 2006; Leeson y Summers., 2005).



**Figura 5.** Estructura de la cantaxantina.

**Fuente:** Naranjo (2002).

### **Cantaxantina: Funciones**

Se reportan varias funciones de los carotenoides además de su efecto pigmentante, como la actividad antioxidante, promoción de la diferenciación celular, regulación de niveles celulares, mejoramiento del sistema inmune (Karadas *et al.*, 2005a; Karadas *et al.*, 2005b; Surai *et al.*, 2003). Desarrollan un papel importante en la función inmune del ave durante los primeros días de vida (Karadas *et al.*, 2005a). La suplementación con cantaxantina en dietas de reproductoras se encuentra asociada con aumento de fertilidad, aumento en la producción de huevo, disminución de la mortalidad embrionaria durante la primera fase del desarrollo embrionario y mejor calidad del pollito (Soto *et al.*, 2011).

Estudios realizados por Shih *et al.* (2008), sugieren que en ratas alimentadas con niveles altos de aceites de soya y pescado, los niveles de TBARS hepático disminuyeron en aquellas que presentaban adición de cantaxantina y  $\beta$ -caroteno. De igual forma indican que el  $\beta$ -caroteno demuestra una mayor eficacia en el hígado, mientras que la cantaxantina es eficaz en el plasma; concluyendo que la capacidad antioxidante de los carotenoides es dependiente de su estructura y el medio ambiente en el que existen.

Shih *et al.* (2008), sugieren que el uso de antioxidantes solos o en combinación con otros nutrientes, funcionan como potentes antioxidantes contra el estrés oxidativo inducido por factores físicos, químicos y biológicos.

McLean *et al.* (2005), evaluaron los perfiles de antioxidantes que presenta la mucosa intestinal en aves de 42 días de edad, concluyendo que la dieta es la fuente de mayor importancia de AO (vitamina E en mayor proporción que carotenoides), estos pasan del lumen intestinal a los enterocitos a través de la membrana plasmática y posteriormente al torrente sanguíneo del ave para su utilización. Además, en el duodeno y yeyuno obtuvieron la mayor actividad y cantidad antioxidante.

### **Cantaxantina: Absorción y transporte**

El saco vitelino juega un papel fundamental en el nacimiento por ser la primera fuente de nutrientes durante los primeros días de vida del pollito (Smits *et al.*, 1999), proporcionando la energía necesaria para el metabolismo basal (respiración y digestión) y para el crecimiento (Bigot *et al.*, 2001). El vitelo está compuesto principalmente por agua (46%), grasa (30% en forma de fosfolípidos y triglicéridos) y proteínas (20%) (Bigot *et al.*, 2001; Yadgary *et al.*, 2010). Los lípidos de la yema, son fuente de ácidos grasos y otros componentes necesarios para la síntesis de fosfolípidos de la membrana en las que crecen los tejidos del embrión (Rosa *et al.*, 2012), constituyen el 84 a 98% del material oxidado por el embrión en las diferentes vías metabólicas, iniciando con el proceso de diferenciación de las células del hígado en el sexto día de incubación (Labier y Leclercq, 1992).

Estudios realizados por Karadas *et al.* (2005b), indican que se requieren alrededor de 3 semanas de suplementación para que la concentración de carotenoides en la yema llegue a su estado de equilibrio. Surai *et al.* (2003) señalan que en gallinas ponedoras el 80% de la cantaxantina suplementada, se encuentran en el ovario

por lo que se transfiere fácilmente a la yema y posteriormente a los tejidos embrionarios, lo que se asocia con un aumento de la resistencia al estrés oxidativo (Surai, 2012c).

El embrión, es capaz de incorporar carotenoides en su hígado con mayor rapidez al compararse con el pollito después de la eclosión. Los compuestos solubles en lípidos a partir de la yema, llegan a los tejidos extraembrionarios. Las lipoproteínas son moléculas ricas en triacilglicéridos, ésteres de colesterol y carotenoides, entre otros. En el torrente sanguíneo, la enzima lipoproteína lipasa, hidroliza la fracción de triglicéridos de la lipoproteína en ácidos grasos libres para su utilización en los tejidos en desarrollo. Los ésteres de colesterol presentes en el remanente de lipoproteínas son tomados por el hígado del embrión, hasta tal punto que los hepatocitos se llenan en grandes cantidades con gotas de ésteres de colesterol. Gran parte de los carotenoides y la vitamina E inicialmente presentes en las lipoproteínas se recuperan en las partículas remanentes y, posteriormente, por lo tanto, en el hígado. Es por esto, que la última parte del período embrionario se caracteriza por la alta acumulación de carotenoides en el hígado (Karadas *et al.*, 2005b).

Estudios realizados por Surai y Speake (1998) evidencian un aumento de carotenoides en hígado de embriones a los 17 días de incubación en adelante, provenientes de gallinas reproductoras Ross suplementadas con alto contenido de carotenoides en la dieta: luteína (4 mg/kg de alimento) y cantaxantina (6.5 mg/kg de alimento).

### **3. OBJETIVOS**

#### **Objetivo General:**

Evaluar el efecto de la adición de Cantaxantina, en la premezcla de vitaminas y minerales, en la alimentación de gallinas reproductoras semipesadas Isa Brown y su efecto en la progenie durante la primera semana de vida.

#### **Objetivos Particulares:**

- Evaluar el efecto de la adición de Cantaxantina, en la alimentación de gallinas reproductoras semipesadas Isa Brown sobre los parámetros productivos de las aves y la calidad de huevo.
- Evaluar los parámetros en incubación, de huevos provenientes de gallinas reproductoras semipesadas Isa Brown alimentadas con adición de cantaxantina.
- Evaluar durante la primera semana los parámetros productivos de los pollos, nacidos de gallinas reproductoras semipesadas Isa Brown alimentadas con adición de cantaxantina.
- Determinar los niveles de estrés oxidativo, en los embriones y pollos provenientes de gallinas reproductoras semipesadas Isa Brown alimentadas con adición de cantaxantina.

## 4. HIPÓTESIS

Las variables productivas, de las gallinas (producción, peso de huevo, consumo de alimento, conversión alimenticia, masa de huevo y huevo incubable) y los pollos nacidos (ganancia de peso, conversión alimenticia, consumo de alimento), mejoran al adicionar cantaxantina en la alimentación.

Las variables porcentaje de incubabilidad y porcentaje de fertilidad aumentan y la mortalidad embrionaria disminuye en los huevos, provenientes de gallinas reproductoras alimentadas con adición de cantaxantina.

Los indicadores de estrés oxidativo (capacidad antioxidante total, lipoperoxidación y contenido de vitamina C), son mejores en los embriones y los pollos de 1 y 7 días provenientes de gallinas reproductoras alimentadas con adición de cantaxantina.

## **5. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **5.1 Localización**

El trabajo se realizó en el Centro de Enseñanza, Investigación y Extensión en Producción Avícola (CEIEPAv) de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México, ubicado en la calle Manuel M. López sin número, en la colonia Santiago Zapotitlán, delegación Tláhuac, Distrito Federal, a una altura de 2240 msnm, 19°15' latitud norte y el meridiano 99° 02' 30" longitud oeste. Bajo condiciones de clima templado sub-húmedo (Cw), Enero es el mes más frío y Mayo el más caluroso, la temperatura promedio anual es de 16°C y la precipitación pluvial anual media, de 747 mm (INEGI, 1992).

Las pruebas de laboratorio se llevaron a cabo en el Laboratorio de Nutrición Animal y Bioquímica en la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM.

### **5.2 Animales y tratamientos**

Se utilizaron 246 gallinas y 30 gallos de la estirpe Isa Brown, de 28 semanas de edad. Las aves fueron alojadas en corrales de una caseta convencional de ambiente natural, con pisos de cemento, cama de viruta, dotados de beberos automáticos, comederos de tolva y nidales.

Las aves se dividieron completamente al azar en 2 tratamientos (1 control y 2 experimental), cada uno con 3 repeticiones de 46 aves en cada grupo (41 hembras y 5 machos). La dieta basal experimental se formuló con un paquete computacional de formulación cuya composición de ingredientes y nutricional se muestran en los Cuadros 1 y 2 respectivamente. Un grupo de aves recibió la premezcla de vitaminas y minerales (Cuadro 3) 500g/ton de Rovimix Repro Maxichick™ (Cantaxantina (CAROPHYLL® Red 10%) y 25-hidroxi-D3 como



reemplazo de parte de la vitamina D3 (25-OH-D3 Hy•D<sup>®</sup>); DSM Nutritional Products Ltd, Basilea, Suiza) adicionado en la dieta (dieta experimental) y el segundo grupo recibió la dieta con la premezcla Rovimix Repro Aves 11 (DSM Nutritional Products Ltd, Basilea, Suiza) sin ninguna adición de cantaxantina (dieta control). En cada grupo, las gallinas y los gallos recibieron las mismas dietas.

### **5.3 Parámetros a evaluar**

- Variables productivas

Las aves tuvieron acceso a las dietas de la semana 28 a la 48 de edad, por lo tanto el periodo experimental fue de 20 semanas, en las cuales se registraron y determinaron semanalmente las siguientes variables.

- \* Porcentaje de producción. Obtenido a partir del total de huevos por semana por unidad experimental, dividido entre el número de días de la semana. Expresado como porcentaje.
- \* Peso de huevo. Se obtuvo el peso por réplica de forma diaria. Se reporta el peso de huevo de forma semanal de cada unidad experimental.
- \* Consumo de alimento. Determinado por diferencia de alimento servido y el no consumido; se determinó cada semana.
- \* Masa de huevo. Se obtuvo multiplicando el porcentaje de producción de cada unidad experimental por el peso de huevo en g de la misma, dividiendo entre 100.
- \* Conversión alimenticia semanal. Se obtuvo por unidad experimental dividiendo el consumo de alimento ave-día entre la masa de huevo.
- \* Huevo incubable. Expresado como porcentaje (%) de los huevos que reúnen los requisitos para ser huevos incubados/total de huevos del día; huevo que no está sucio, roto o en fáfara y que cumplió con las condiciones de tamaño, forma, peso, y calidad de cascarón para incubar.

- Calidad de huevo

15 huevos por tratamiento de la puesta del día (5 huevos por réplica) se recolectaron cada 7 semanas durante el experimento, los cuales fueron empleados para determinar altura de la albúmina, color de la yema, peso de la yema y grosor del cascarón (García *et al.*, 2002; Zhang *et al.*, 2011). Los datos de peso de huevo y altura de la albúmina fueron calculados automáticamente y transferidos al programa en una computadora la cual realizaba el cálculo automático de las Unidades Haugh, empleando el programa Eggware (Sistema TSS QCC inTech®). La coloración de la yema fue medida mediante un colorímetro digital (Sistema TSS QCC inTech®). La dureza del cascarón, se realizó mediante un micrómetro digital (Mitutoyo APB-1D, Digimatic micrometer).

- Incubación

Durante las semanas 32, 36, 40, 44 y 48 de edad de las aves, se recolectaron 100 huevos de la puesta del día de cada tratamiento, los cuales fueron identificados, desinfectados y pesados de forma individual. Se incubaron por 21 días en el CEIEPAV, a una altura de 2240 msnm, utilizando una maquina incubadora de carga múltiple (Chick Master), con una temperatura que osciló entre 37,2 a 37,8°C. El día 18 de desarrollo embrionario, los huevos se observaron a trasluz y se abrieron los claros para determinar infertilidad macroscópica o mortalidad embrionaria, adicionalmente se recolectaron 6 embriones de cada tratamiento, a los que se les evaluó la coloración en el sistema CieLab (colorímetro de reflectancia CR-400 Minolta) y peso, de hígado y saco vitelino. También se determinó la capacidad antioxidante total y la susceptibilidad a la peroxidación valoradas en hígado (Karadas *et al.*, 2011; Karadas *et al.*, 2006; Surai *et al.*, 2003). Los huevos que contenían embriones, fueron transferidos a bandejas de nacimiento y se colocaron nuevamente en la incubadora para finalizar el desarrollo embrionario.

Las variables evaluadas durante la incubación fueron:

- \* Porcentaje de fertilidad. Expresada como porcentaje (%). Se obtuvo dividiendo el número de huevos fértiles, entre el número de huevos totales puestos en la incubadora.
- \* Porcentaje de incubabilidad. Expresada como porcentaje (%). Se obtuvo dividiendo el número de huevos eclosionados, entre el total de huevos colocados en la incubadora.

Finalizada la etapa de incubación; se tomaron todos los huevos no eclosionados, con la finalidad de revisar el grado de desarrollo que alcanzaron durante la incubación. Los huevos no eclosionados, se clasificaron en mortalidad fase I (Día 1-7), mortalidad fase II (Día 8-14), mortalidad fase III (Día 15-21), contaminados y picados no nacidos (Quintana, 2011).

- Primera semana

Después de la eclosión (los animales restantes nacidos), fueron pesados y alojados en una caseta experimental de ambiente natural en jaulas de crianza en baterías Petersime® de 68X68cm, con alimento de iniciación a base de sorgo y pasta de soya hasta los 7 días de edad. Durante este tiempo se midió la ganancia de peso, consumo de alimento y conversión alimenticia (ganancia de peso/consumo de alimento, g:g).

Al día 1 y 7 después de la eclosión, se colectaron 6 y 12 aves respectivamente de cada tratamiento, a las cuales se les determinó coloración en el sistema CieLab (CR-400 Minolta), peso de hígado, saco vitelino, capacidad antioxidante total, susceptibilidad a la lipoperoxidación y total de vitamina C en hígado.

- Pruebas de estrés oxidativo

Al final de la fase experimental las muestras de hígado recolectadas, se lavaron con Ringer Krebs (solución de cloruro de potasio, cloruro de sodio, sulfato de magnesio, fosfato de potasio y bicarbonato de sodio, ajustado con un pH 7.4) y se maceraron para hacer una ruptura a nivel celular. Posteriormente, se les determinó proteína empleando el método de Bradford (1976). Las muestras colectadas se transfirieron a tubos de microcentrifuga, uno por cada prueba de laboratorio. Finalmente, se congelaron a  $-40^{\circ}\text{C}$  hasta su análisis.

**\* Capacidad antioxidante total:**

La capacidad antioxidante total se midió mediante la prueba de poder antioxidante por reducción férrica (FRAP) propuesta por Benzie y Strain (1996 y 1999).

Esta técnica se basa en que los antioxidantes disminuyen o impiden la oxidación de un sustrato, esto sucede mediante la reacción redox en donde el oxidante utiliza al antioxidante en lugar del sustrato, por lo que el oxidante se reduce a expensas del antioxidante, excepto en los sistemas antioxidantes que actúan mediante quelación o desactivación enzimática. Los antioxidantes presentes en una muestra reducen al Fe (III) en un medio ácido transformándolo en Fe(II), el cual en presencia de 2,4,6-tripiridil-s-triazina (TPTZ) forma un complejo azul cuya absorbancia se mide a 593nm.

Muestras de 50  $\mu\text{l}$  se tomaron por duplicado, a cada una se le agregó 1.5 ml de mezcla de buffer de acetato 300mM a pH 3.6, cloruro férrico hexahidrato ( $\text{FeCl}_3$ ) 20 mM y 2,4,6-tripiridyl-s-triazine 10 mM (disuelto en HCl 40mM), en una relación 10:1:1 respectivamente. Las muestras se incubaron a  $37^{\circ}\text{C}$  con agitación por 10 minutos y se obtuvieron las absorbancias en un espectrofotómetro a 593 nm. Las muestras con la mezcla y el TPTZ se protegieron de la luz todo el tiempo. Para calcular los resultados se realizaron curvas de con diferentes concentraciones (0.2 a 3.2 mM) de Trolox (6-hidroxy-2-5-7-8-tetramethyl-chroman-2-carboxylicacid). Los

resultados se reportaron como nmol equivalentes a trolox por mg de proteína (nmol Eqtrolox/mg de proteína).

**\* Lipoperoxidación:**

Se determinó, mediante la prueba de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS) de acuerdo al procedimiento de Gutteridge (1975). El malondialdehído (MDA) es un producto secundario de la oxidación de los lípidos que reacciona con el ácido tiobarbitúrico (TBA) en un medio ácido y en alta temperatura. El producto genera un color rosa que absorbe luz a 532nm (Hallwell y Chirico, 1993).

Sin embargo el MDA, también se forma por la oxidación de proteínas, aminoácidos y monosacáridos; además, existen otros aldehídos que al igual que el MDA reaccionan con TBA, en conjunto se les llama sustancias reactivas al ácido TBA (TBARS). Por esta razón la reacción o prueba de TBA mide realmente el total de TBARS presentes en la muestra.

Muestras de 200µl se transfirieron por duplicado de cada homogenado y se mezclaron con 2 ml de ácido acético al 20% (pH 2.5) y ácido tiobarbitúrico al 0.8%. Paso seguido los tubos se mantuvieron en ebullición por 60 minutos, pasado el tiempo se enfriaron en hielo durante 5 minutos. Posteriormente, se les agregaron 5 ml de n-butanol y se agitaron vigorosamente por 12 segundos para luego centrifugarse 10 minutos a 4000 rpm. Los sobrenadantes (butanol+complejo TBA-MDA), se leyeron para obtener las absorbancias en un espectrofotómetro a 532 nm.

El valor de TBARS, se comparó con un estándar de MDA producido a partir de 1,1,3,3, tetraethoxpropane (TEP) 0.1mM. Los resultados se reportaron en nmol de malondialdehído por mg de proteína (nmol MDA/mg de proteína).

**\* Ácido ascórbico:**

La vitamina C (Ascorbato), se determinó mediante el método propuesto por Jakota y Dani (1982).

Con el objetivo de extraer la muestra e impedir que la proteína presente interfiriera con los resultados, se tomaron 400µl de cada muestra y se mezclaron con 1.6 ml de ácido tricloroacético al 10%, paso seguido se agitaron y dejaron reposar en agua-hielo por 5 minutos para luego centrifugarse 5 minutos a 3000 rpm. Alícuotas de 500 µl del sobrenadante de la muestra extractada se transfirieron por duplicado y se mezclaron con 0.2 ml de reactivo de Folin-Ciocalteu Fenol dilución 1/10, posteriormente se incubaron a temperatura ambiente por 10 minutos y se leyeron para obtener las absorbancias en un espectro a 760 nm.

El valor de vitamina C, se comparó con un estándar producido a partir de ácido ascórbico dilución acuosa. Los resultados se reportaron en µg de vitamina C por mg de proteína (µg VitC/ml de proteína).

#### **5.4 Análisis estadístico**

Se empleó un diseño experimental completamente aleatorizado de dos tratamientos correspondientes a las dietas con tres repeticiones, tomando como unidad experimental 46 aves (41 hembras y 5 machos). Para tener una validez en cada una de las pruebas realizadas, en cada una de las variables en estudio se comprobaron los supuestos de normalidad y homocedasticidad, con un nivel de significancia del 5% (Kuehl, 2001). Se elaboró una base de datos en Excel y se procesó con el programa estadístico Statistical Package for Social Sciences SPSS, versión 16.0 (2010).

El número de repeticiones se determinó por el método de Wheeler (1974) y resulto en 7 por tratamiento, sin embargo por razones económicas y logísticas el número de repeticiones debió ser reducido a 3.

- **Análisis variables productivas de las gallinas y calidad de huevo**

Se empleó un análisis de varianza multivariado de dos tratamientos correspondientes a las dietas y con tres replicas siendo la unidad experimental un lote de 46 reproductores (41 hembras y 5 machos) semipesadas Isa Brown. Los datos obtenidos durante las pruebas de calidad de huevo (unidades Haugh, grosor de cascarón y color rojo de la yema), se evaluaron mediante un análisis de perfiles. Para el análisis de las variables productivas (% de producción, peso de huevo, masa de huevo, consumo de alimento, índice de conversión y % de huevo incubable), se obtuvieron de cada unidad experimental los valores promedios semanales para cada variable. Aunque el análisis se debió haber realizado con las 20 semanas de experimentación, esto no fue posible dado al exceso de número de semanas con respecto al número de repeticiones, por lo que se realizó con los valores obtenidos en las semanas 1, 5, 10, 15 y 20 de experimentación.

La unión de estos 5 tiempos promedios, dió como resultado un perfil para cada uno de los tratamientos. Se entiende por perfil a la gráfica de segmentos de recta que unen a las respuestas obtenidas de un mismo individuo en mediciones sucesivas de tiempo (Pablos, 2014)<sup>1</sup>. Estos perfiles se analizaron de acuerdo a la técnica de análisis de perfiles propuesta por Morrison (1990), en donde postula tres hipótesis:

1. Paralelismo de los perfiles
2. Igualdad de los efectos entre tratamientos
3. Igualdad de los efectos dentro de cada tratamiento

Las hipótesis anteriores dan respuesta a las siguientes preguntas:

1. ¿Los patrones a lo largo de los cinco tiempos evaluados son iguales para cada uno de los tratamientos en estudio?

---

<sup>1</sup> Pablos José Luís. Comunicación personal. Agosto 6 de 2014. México D.F.

2. ¿Existen diferencias en las respuestas entre cada tratamiento, a lo largo del tiempo evaluado?
3. ¿Las respuestas en cada uno de los tiempos evaluados, son las mismas dentro de cada tratamiento?

Esta prueba se deriva dentro del análisis del modelo lineal. Así que para tener una validez del mismo, para cada variable analizada se comprobaron los supuestos de normalidad y homocedasticidad (Kuehl, 2001).

A continuación se describe brevemente en que consiste el análisis de perfiles:

### 1. Paralelismo de los perfiles

El análisis de las hipótesis de paralelismo (Ho1) para las variables productivas y de calidad de huevo, es análogo a un Análisis de Varianza Multivariado (MANOVA). Para el análisis estadístico se empleó el programa estadístico JMP versión 5.0 (2002). A partir de éste se obtuvieron las matrices de las sumas de cuadrados y cuadrados medios de los tratamientos ( $B = [bij]$ ) y del error ( $E = [eij]$ ), para asociarlos a los elementos  $B^* = [bij^*]$  y  $E^* = [eij^*]$ , mediante:

$$\begin{aligned} bij^* &= bij - (bi+1j) - (bij+1) + (bi+1j+1) & 1 \leq i \leq p-1 & \quad 1 \leq j \leq p-1 \\ eij^* &= eij - (ei+1j) - (eij+1) + (ei+1j+1) & 1 \leq i \leq p-1 & \quad 1 \leq j \leq p-1 \end{aligned}$$

Similar al caso multivariado, el estadístico de prueba para la hipótesis de paralelismo es Lambda de Wilks ( $\lambda$ ) donde:

$$\lambda = \frac{|E^*|}{|E^* + B^*|} = \frac{|M'EM|}{|M'(E + B)M|}$$

Con la aproximación de Bartlett,  $\lambda$  de Wilks es:

$$-\left\{n - 1 - \frac{1}{2}(p - 1 + t)\right\} \ln \lambda \cap X^2((p - 1)(t - 1))$$



El criterio de rechazo de Ho1 se postula “Si el valor transformado de  $\lambda \geq X^2_{((p-1)(t-1); \alpha)}$ ”.

### 2. Igualdad de los efectos entre tratamientos

Para el análisis de la hipótesis de igualdad de efectos entre tratamientos (Ho2) (con y sin adición de CX), se empleó como estadístico de prueba el criterio de Wilks ( $\lambda$ ), el cual se obtuvo del análisis multivariado de los tratamientos, empleando el programa estadístico JMP versión 5.0 (2002).

### 3. Igualdad de efectos de los 5 tiempos dentro de cada grupo

- I. Si Ho1 no fue rechazada, es decir los perfiles son paralelos, lambda de Wilks para Ho3 es:

$$\lambda = \frac{|E^*|}{|E^* + H^*|} = \frac{|A'EM|}{|A'EA + H^*|}$$

Donde E es la matriz periodo por periodo (pxp) de suma de cuadrados y cuadrados medios correspondientes al error empleado en el análisis.

La matriz H\* está definida por:

$$H^* = \sum_{i=1}^t ni(\bar{y}^*_{i.}, \bar{y}'_{i.})$$

El criterio de decisión para rechazar Ho3 es “Si el valor transformado de  $\lambda \geq X^2_{(t(p-1)), \alpha}$ ”.

- II. Si Ho1 fue rechazada, es decir los perfiles no son paralelos, el análisis de la igualdad de los efectos dentro de cada tratamiento se realiza por separado para cada tratamiento. Empleando para esto el estadístico de prueba  $T^2$  de Hotelling's.

$$T^2 = ni\bar{Y}'_{i.} C'(CSiC')^{-1}C\bar{Y}_{i.}$$

El estadístico  $T^2$  está asociado con la distribución F mediante:

$$F = \frac{ni - p + 1}{(ni - 1)(p - 1)} T^2 \cap F_{(p, n-p)}$$

El criterio de decisión para rechazar  $H_0$  es “Si el valor transformado de  $F \geq F_{(p, n-p), \alpha}$ ”.

- **Análisis de las variables evaluadas durante la incubación y primera semana de la progenie**

Teniendo en cuenta que estas variables se estudiaron a lo largo del tiempo, se consideran observaciones independientes aunque están dentro del lote de las reproductoras. Para el análisis de las variables, color y peso de hígado y saco vitelino evaluados durante la incubación y la primera semana de los pollos, se realizó un análisis de varianza (ANDEVA), mediante un diseño completamente al azar; las variables que presentaron diferencias estadísticas significativas se evaluaron mediante la prueba de Tukey con un nivel de significancia del 5% (Kuehl, 2001). El análisis se explica mediante el siguiente modelo:

$$Y_{ijk} = \mu + \tau_i + \varepsilon_{ijk}$$

$$1 \leq i \leq 2; 1 \leq j \leq 3$$

Dónde:

$Y_{ijk}$ : Valor observado de la variable respuesta en estudio correspondiente a la k-ésima observación del i-ésimo tratamiento y j-ésima repetición.

$\mu$ : Media general.

$\tau_i$ : Efecto de i-ésimo tratamiento.

$\varepsilon_{ijk}$ : Error experimental, variable aleatoria de la k-ésima observación correspondiente al i-ésimo tratamiento y j-ésima repetición.

- **Análisis de las pruebas de estrés oxidativo**

Teniendo en cuenta que estas variables se estudiaron a lo largo del tiempo, se consideran observaciones independientes aunque están dentro del lote de las reproductoras. Para el análisis las pruebas de estrés oxidativo (Frap, Tbars y Ácido ascórbico), se empleó un análisis de varianza (ANDEVA), mediante el modelo expuesto anteriormente.

Se realizó un análisis de correlación lineal simple de Pearson (Daniel, 1989) entre la capacidad antioxidante total (FRAP) y las prueba de sustancias reactivas al ácido tiobarbiturico (TBARS).

Además se realizó un análisis de correlación lineal simple de Pearson (Daniel, 1989) entre la capacidad antioxidante total (FRAP) y el contenido de ácido ascórbico en los hígados de embrión y pollo.

## 6. RESULTADOS

### 6.1 Variables productivas

#### ○ **Porcentaje de producción**

El análisis de perfil para la variable porcentaje de producción muestra que no existe paralelismo entre los perfiles (Figura 6), indicando que la adición de cantaxantina no tiene efecto significativo ( $P=0.3989$ ) y tampoco presentaron diferencias significativas a lo largo del tiempo ( $P=0.9248$ ) (Cuadro 4).

Durante las 20 semanas de experimentación el porcentaje de producción decreció, esto debido al ciclo de producción que presentan las aves de postura; sin embargo el tratamiento con adición de cantaxantina presentó mayor persistencia (94.9%) al compararse con el control (93.4%).

#### ○ **Peso de huevo**

Para esta variable la Figura 7, indica que no existe paralelismo en los perfiles. El peso promedio más bajo se presentó en el tratamiento con adición de cantaxantina (62.0g) seguido por el tratamiento control (62.1g). Sin embargo no existe diferencia significativa entre tratamientos ( $P=0.9524$ ) y tampoco diferencia significativa a lo largo del tiempo ( $P=0.6944$ ) (Cuadro 4).

#### ○ **Masa de huevo**

No se encontró paralelismo para la variable masa de huevo (Figura 8). No se encontraron diferencias significativas del tratamiento ( $P=0.3239$ ) y a lo largo del tiempo ( $P=0.8327$ ) (Cuadro 4). El tratamiento con cantaxantina presentó, el mayor rendimiento (58.9g), seguido por el tratamiento control (58.0g).

#### ○ **Consumo de alimento**

Para la variable consumo de alimento no se encontró paralelismo entre los perfiles (Figura 9). No se detectaron diferencias significativas entre tratamientos

( $P=0.8462$ ) y de igual manera a lo largo del tiempo ( $P=0.1889$ ) (Cuadro 4). Las aves alimentadas con el tratamiento control, tuvieron un consumo de alimento menor (123.9g) y aquellas que recibieron la dieta experimental un consumo de alimento mayor (124.4g).

- **Índice de conversión alimenticia**

No se encontró paralelismo en los perfiles para la variable índice de conversión alimenticia (Figura 10). No se detectaron diferencias significativas entre tratamientos ( $P=0.7009$ ), ni a lo largo del tiempo ( $P=0.1476$ ) (Cuadro 4). El mejor índice de conversión alimenticia lo presentaron las aves alimentadas con adición de cantaxantina (2.11) y el mayor las aves alimentadas con la dieta control (2.13).

- **Huevo incubable**

Para la variable huevo incubable los perfiles mostraron paralelismo (Figura 11). El mayor porcentaje de huevos incubables lo presentó el tratamiento con adición de cantaxantina (85.0%) y el menor número lo obtuvo el tratamiento control (81.6%). Para esta variable se encontraron diferencias significativas en los tratamientos ( $P=0.0407$ ), pero no fue así a lo largo del tiempo ( $P=0.1575$ ).

## **6.2 Calidad de huevo**

No se encontró paralelismo en los perfiles para las variables grosor de cascarón y unidades Haugh (Figura 12 A-B). No se presentaron diferencias significativas entre tratamientos ( $P=0.8555$  y  $P=0.2863$  respectivamente), ni a lo largo del tiempo ( $P=0.3940$  y  $P=0.2236$  respectivamente) para ambas variables (Cuadro 5).

La variable color rojo de la yema presentó paralelismo entre los perfiles (Figura 12 C). Mediante el análisis de medidas repetidas, se determinó que la cantaxantina tiene efecto en esta variable ( $P<0.001$ ) y que el comportamiento de los perfiles a través del tiempo es diferente ( $P=0.0377$ ) (Cuadro 5).

### **6.3 Incubación**

Los resultados promedio obtenidos durante la incubación de los huevos provenientes de la etapa experimental, se pueden apreciar en el Cuadro 6.

- **Porcentaje de fertilidad**

El porcentaje de fertilidad en las aves, no se vió afectado por la adición de cantaxantina en la dieta ( $P=0.6627$ ). El menor % de fertilidad lo obtuvo el tratamiento control (97.7%), seguido por el tratamiento experimental (98.2%) (Cuadro 6).

- **Porcentaje de incubabilidad**

Se encontró efecto significativo del tratamiento para la variable porcentaje de incubabilidad ( $P=0.0497$ ). En este caso, el tratamiento control evidenció menor porcentaje de pollos nacidos (54.6%), presentando un mayor número el tratamiento con adición de cantaxantina (63.6%) (Cuadro 6).

- **Porcentaje de mortalidad Fase I, II y III**

No se detectaron diferencias significativas entre tratamientos, para el porcentaje de mortalidad en la fase I ( $P=0.9852$ ), fase II ( $P=0.9217$ ) y en la fase III ( $P=0.1141$ ). Para esta variable los valores más altos de mortalidad los presentó el tratamiento control (5.3%, 3.8% y 23.2% respectivamente), el tratamiento con adición de cantaxantina mostró los valores más bajos (5.3%, 3.5% y 18.2% respectivamente) (Cuadro 6).

- **Porcentaje de huevos picados no nacidos**

No se consignó efecto significativo del tratamiento, para el porcentaje de huevos picados no nacidos ( $P=0.2583$ ). El tratamiento control obtuvo el valor más alto (4.1%) y el tratamiento con adición de cantaxantina, mostró el valor más bajo (2.6%) de huevos picados no nacidos (Cuadro 6).

- **Porcentaje de huevos contaminados**

No se observó efecto de tratamiento, en el porcentaje de huevos contaminados ( $P=0,0876$ ). El mayor porcentaje de huevos contaminados lo presentó el tratamiento control (1.0%), seguido del tratamiento con adición de cantaxantina (0.2%) (Cuadro 6).

- **Color y peso de hígado y saco vitelino**

En el Cuadro 7 se muestran los resultados de ambos tratamientos para las variables peso, color y relación de hígado y saco vitelino en embriones de 18 días de incubación.

El peso del hígado y el saco vitelino no presentaron diferencias significativas entre tratamientos ( $P=0.103$  y  $P=0.293$  respectivamente); en cuanto a la relación de cada órgano con su peso vivo, no se evidenció diferencia significativa ( $P=0.244$  y  $P=0.202$  respectivamente). El menor peso para hígado y saco vitelino lo obtuvieron las aves descendientes de madres alimentadas con adición de cantaxantina (0.5g y 11.5g respectivamente); presentando mayor peso los órganos de embriones provenientes de madres alimentadas con el tratamiento control (0.5g y 11.7g respectivamente) (Cuadro 7).

Los embriones provenientes de madres alimentadas con el tratamiento control, presentaron la mayor relación de hígado y saco vitelino con respecto al peso del ave (0.9% y 22.7% respectivamente); la menor relación la presentaron los embriones provenientes de madres con suplementación de cantaxantina (0.9% y 22.5% respectivamente).

El color del hígado y saco vitelino fueron determinados con un colorímetro de reflectancia Minolta CR-400, el sistema de medición se conoce como espacio de color Cielab  $L^*a^*b^*$ ,  $L^*$  indica la luminosidad, es decir, que tan claro u oscura es la medición;  $a^*$  marca el color rojo y  $b^*$  el color amarillo, esto quiere decir que el Minolta asigna coordenadas en una gráfica tridimensional para un determinado

color y lo ubica en un punto exacto de dicha gráfica. Para la presente investigación la medición del color de hígado en embriones de 18 días de desarrollo mostró efecto de la dieta materna en el color rojo y luminosidad ( $P=0.001$  para ambos), para el caso del color amarillo no se presentó efecto del tratamiento ( $P=0.855$ ).

Los embriones provenientes de madres alimentadas con pigmento rojos (CX), presentaron mayor valor con respecto a los descendientes de las madres con el tratamiento control (18.2 vs 12.3 de enrojecimiento); para el caso de luminosidad y color amarillo los hígados de las madres con la dieta control presentaron valores más altos (51.1 y 24.2 respectivamente) al compararlos con los embriones cuyas madres fueron alimentadas con la dieta experimental (47.4 y 23.9 respectivamente).

La medición del color del saco vitelino en embriones de 18 días de desarrollo, mostró efecto de la dieta materna en el color rojo ( $P=0.001$ ), para el caso del color amarillo y luminosidad no se observó efecto del tratamiento ( $P=0.381$  y  $P=0.757$  respectivamente).

Los embriones provenientes de madres alimentadas con pigmento rojo, presentaron mayor valor con respecto a los descendientes de madres con el tratamiento control (15.0 vs 7.6 de color rojo). El color amarillo el saco vitelino descendientes de las gallinas alimentadas con la dieta control presentaron valores menores (30.8) en comparación a la dieta con suplementación de CX (32.6). La variable luminosidad presento valores similares en ambos tratamientos (43.4 en el tratamiento control y 43.8 en el tratamiento con adición de CX).

#### **6.4 Primera semana de los pollos**

En el Cuadro 8 se muestran los resultados promedios de los pollos provenientes de las dos dietas (control y experimental), para las variables evaluadas durante la primera semana después del nacimiento.



- **Peso al nacimiento y peso al día 7 de edad**

Para las variables peso al nacimiento y peso al día 7, no se observó efecto de la dieta materna ( $P=0.4651$  y  $P=0.7495$  respectivamente). EL menor peso al nacimiento fue obtenido por el tratamiento control (39.2g) seguido por el tratamiento con adición de cantaxantina (39.6g). Sin embargo el mayor peso al día 7 de edad, lo presentó el tratamiento control (62.7g), siendo el tratamiento con adición de cantaxantina el que mostrara un menor peso (61.8g) (Cuadro 8).

- **Ganancia de peso**

No se observaron diferencias significativas de la dieta materna, para la ganancia de peso de los pollos proveniente de las aves en estudio ( $P=0.7738$ ). La mayor ganancia de peso, fue obtenida por el tratamiento control (22.7g) y la menor por el tratamiento con adición de cantaxantina (22.0g) (Cuadro 8).

- **Consumo de alimento**

No se observó efecto de la dieta materna, para la variable consumo de alimento ( $P=0.8031$ ). En este caso el mayor consumo de alimento, fue registrado para las aves nacidas de madres alimentadas con la dieta control (47.4g) el menor consumo lo obtuvieron las aves nacidas de madres alimentadas con adición de cantaxantina (46.0g) (Cuadro 8).

- **Conversión alimenticia**

La suplementación materna con cantaxantina, no mostró efecto significativo para la conversión alimenticia de los pollos durante la primera semana ( $P=0.6250$ ). La conversión alimenticia de las aves provenientes de madres alimentadas con la dieta control, fue igual a la de las aves que nacieron de madres alimentadas con adición de cantaxantina (2.09) (Cuadro 8).

- **Color y peso de hígado y saco vitelino después de la eclosión**

Las variables peso y relación del hígado y saco vitelino en pollos de 1 día posteclosión, no presentó diferencias significativas entre tratamientos (para la variable peso  $P=0.922$  y  $P=0.134$  respectivamente y para la variable relación  $P=0.281$  y  $P=0.175$  respectivamente). El color rojo y la luminosidad del hígado en estas aves se vio influenciada por la adición de CX en la dieta materna ( $P=0.001$  para ambas variables), por el contrario el color amarillo no presentó diferencia significativa ( $P=0.284$ ) (Cuadro 9).

El peso del hígado fue igual para ambos tratamientos (0.9g), sin embargo los pollos descendientes de madres alimentadas con el tratamiento con adición de CX mostró una mayor coloración roja (25.3) al compararse con el tratamiento control (12.9). El color amarillo fue similar para ambos tratamientos, 33.3 para el tratamiento con adición de CX y 31.9 para el tratamiento control. Los valores claros en las muestras de pollos de 1 día posteclosión los presentó la dieta control (55.4), la dieta experimental obtuvo valores oscuros (51.0). La relación del hígado con respecto al peso de las aves fue mayor en la aves provenientes de las madres dietadas con el tratamiento control (2.4%), los pollos que descendieron del madres alimentadas con el tratamiento con adición de CX presentaron una relación menor (2.3%).

El peso y relación del saco vitelino, en pollos de 1 día posteclosión fue mayor en las aves que descendían de madres con dietas adicionadas (6.5 g y 16.3% respectivamente), las aves provenientes de madres con el tratamiento control presentaron valores menores (5.8g y 14.8% respectivamente). El color del saco vitelino en las aves nacidas del tratamiento con adición de CX, fue mayor para el tono rojo (7.7), menor para el tono amarillo (29.4) y presentó una luminosidad menor (44.0) al compararlo con las aves descendientes del tratamiento control (1.4 para el tono rojo, 30.5 para el tono amarillo y mayor luminosidad 45.2).

- **Color y peso de hígado en pollos de 7 días**

Las variables peso de hígado, color rojo y color amarillo de hígado en pollos de 7 días posteclosión presentaron diferencias significativas al adicionar CX en la dieta materna ( $P=0.045$ ,  $P=0.020$  y  $P=0.015$  respectivamente. Para el caso de luminosidad y relación del hígado con el peso del ave, no se detectó efecto de la dieta materna ( $P=0.298$  y  $P=0.194$  respectivamente) (Cuadro 10).

Las aves provenientes de madres alimentadas con el tratamiento control obtuvieron un mayor peso del hígado, por lo tanto una mayor relación (2.5g y 3.9% respectivamente) al compararlas con la dieta con adición de CX (2.3g y 3.8% respectivamente). Respecto al color las aves nacidas de madres alimentadas con la dieta experimental presentaron mayor color rojo y amarillo, los valores menores fueron para aves descendientes de las madres con el tratamiento control (17.4 vs 15.7 para color rojo y 18.5 vs 16.3 para color amarillo). La luminosidad fue similar para los dos grupos de aves (42.7 para el tratamiento control vs 42.0 para el tratamiento con adición de CX).

## **6.5 Pruebas de estrés oxidativo**

- **Capacidad antioxidante total**

Para medir este indicador, se empleó la prueba de FRAP, esta técnica cuantifica la cantidad total de antioxidantes reductores que se encuentran en el hígado, por lo tanto valores superiores indican menor estrés oxidativo. Los resultados se reportan en nmol Eqtrolox/mg de proteína.

La adición de cantaxantina en la dieta materna presentó efecto significativo en los valores de la capacidad antioxidante en embriones de 18 días ( $P=0.001$ ), pollos de 1 día posteclosión ( $P=0.001$ ) y en pollos de 7 días posteclosión ( $P=0.001$ ) (Cuadro 11). La mayor capacidad antioxidante la presentaron los animales provenientes

de la dieta experimental en el día 18 de desarrollo embrionario (0.61 nmolEqtrolox/ mg de proteína) y al día 7 posteclosión (1.09 nmolEqtrolox/ mg de proteína), sin embargo el día 1 posteclosión fue de 1.33 nmolEqtrolox/ mg de proteína (Figura 13).

- **Lipoperoxidación**

Para medir este indicador se empleó la prueba de TBARS, la concentración de MDA observada es directamente proporcional a la magnitud de la lipoperoxidación en la muestra, entonces, valores grandes indican mayor estrés oxidativo. Los resultados se reportan en nmol MDA/mg de proteína.

La adición de cantaxantina en la dieta materna presentó efecto significativo en los valores de lipoperoxidación en embriones de 18 días ( $P=0.039$ ), pollos de 1 día posteclosión ( $P=0.001$ ) y en pollos de 7 días posteclosión ( $P=0.001$ ) (Cuadro 12).

Durante el día 18 de desarrollo embrionario y día 1 posteclosión las aves provenientes de madres alimentadas con el tratamiento control presentaron mayor lipoperoxidación en hígado (2.81 y 8.49 nmol MDA/mg de proteína respectivamente), la menor lipoperoxidación para estas edades la obtuvieron las aves descendientes de madres con adición de CX en la dieta (2.17 y 2.83 nmol MDA/mg de proteína respectivamente).

Sin embargo en el día 7 posteclosión, la situación fue inversa, los pollos nacidos de madres con la dieta control presentaron menor lipoperoxidación en el hígado (1.43 nmol MDA/mg), al compararse con los pollos procedentes de madres con la dieta experimental (2.20 nmol MDA/mg) (Figura 14).

Al evaluar el grado de asociación entre la capacidad antioxidante total y la lipoperoxidación resultó altamente significativa ( $P=0.001$ ). Estas dos variables presentan una asociación positiva de 0.634 (Cuadro 13).

- **Ácido ascórbico**

Para medir este indicador, se empleó la prueba de determinación de ácido ascórbico, esta técnica cuantifica la cantidad total de ácido ascórbico que se encuentra en el hígado. Los resultados se reportan en  $\mu\text{g}$  de vitamina C/mg de proteína.

La adición de cantaxantina en la dieta materna, mostró un efecto significativo en la cantidad total de ácido ascórbico en embriones de 18 días ( $P=0.0426$ ), pollos de 7 días posteclosión ( $P=0.0007$ ), pero en pollos de 1 día posteclosión no se presentó diferencia de la dieta ( $P=0.318$ ) (Cuadro 14).

En embriones de 18 días de desarrollo y pollos de 1 día posteclosión, los niveles de vitamina C fueron mayor para las aves descendientes de madres con la dieta control al compararse con aquellos provenientes de madres con adición de CX (3.4 vs 2.7  $\mu\text{g}$  de VitC/mg de proteína respectivamente y 4.4 vs 3.9  $\mu\text{g}$  de VitC/mg de proteína respectivamente). Sin embargo, al día 7 posteclosión los valores de vitamina C fueron inversos a los mostrados en edades anteriores (5.8  $\mu\text{g}$  de VitC/mg de proteína para aves provenientes de la dieta experimental vs 3.9  $\mu\text{g}$  de VitC/mg de proteína en aves provenientes de la dieta control) (Figura 15).

Al evaluar el grado de asociación entre la capacidad antioxidante total y el total de ácido ascórbico, no resulto significativa ( $P=0.191$ ), por lo cual no se detectó un grado de asociación entre dichas variables (Cuadro 14).

## 7. DISCUSIÓN

### 7.1 Parámetros productivos

El uso de carotenoides como  $\beta$ -caroteno, luteína, cantaxantina; y vitaminas con acción antioxidante principalmente la vitamina E, han sido tema de estudio en gallinas reproductoras y gallinas ponedoras.

En la presente investigación el empleo de CX no afectó los parámetros productivos porcentaje de postura, peso de huevo, masa de huevo, consumo de alimento y conversión alimenticia. Esta información coincide con estudios donde evaluaron el efecto de la adición de CX en el comportamiento productivo de gallinas reproductoras por 20 semanas, y no encontraron efecto en el porcentaje de producción de las aves (Rosa *et al.*, 2012; Borda, 2011; Soto *et al.*, 2011). Por otra parte también, Zhang *et al.* (2012) concluyeron que la adición de CX durante 24 semanas en gallinas reproductoras Three-Yellow, no influye sobre los parámetros peso de huevo, conversión alimenticia, consumo de alimento y porcentaje de postura. García *et al.* (2002) empleando diferentes concentraciones de CX (0, 12, 24, 36, 48, 60 ppm) en la dieta de gallinas de postura durante 56 días, no observaron efecto sobre los parámetros productivos porcentaje de postura, consumo de alimento, masa de huevo y conversión alimenticia; concordando con lo que se reporta en el presente estudio.

### 7.2 Calidad de huevo

El grosor de cascarón y unidades Haugh, no se afectaron por la adición de CX en la dieta de gallinas Isa Brown. El grosor de cascarón esta relaciona con la fuerza a la ruptura de la cáscara, a mayor grosor existe una mejor resistencia a la ruptura. El empleo de 25-OH-D3 está relacionado con las mejoras en el crecimiento del esqueleto de las aves, la producción de huevos, la calidad del cascarón y la

reproducción, ya que esta vitamina está directamente involucrada en equilibrio del calcio y el fósforo (Bréque *et al.*, 2006; Defas y Puruncajas, 2006).

En otros estudios, no se presentaron diferencias en cuanto al porcentaje de yema, albumen y cascara al emplear CX en dietas para reproductoras (García *et al.*, 2002; Rosa *et al.*, 2012; Borda, 2011).

Sin embargo, el color de la yema estuvo influenciado por la suplementación con CX en el presente estudio, similar a lo encontrado por Zhang *et al.* (2011), García *et al.* (2002), Rosa *et al.* (2012) y Borda (2011). En gallinas ponedoras alimentadas con 24mg/kg de CX el color de yema de huevo cambió de color amarillo pálido en el grupo control, a rojo oscuro en el grupo experimental (Surai *et al.*, 2003; Surai y Speake., 1998). Halaj *et al.* (1999) concluyeron que el color de la yema en gallinas de 42 semanas de edad, aumentó después de 7 a 10 días de suplementación con cantaxantina.

En las gallinas ponedoras, la deposición de carotenoides en la yema de huevo varía ampliamente, la cantaxantina se deposita con una eficiencia de 30 a 45%, la zeaxantina 25% y la astaxantina 14%; sin embargo, en este mismo estudio los carotenoides encontrados en las excretas correspondían a un 70% de astaxantina y zeaxantina y de 45 a 50% para la cantaxantina (Surai, 2012a). Surai *et al.* (2003) percibieron que en gallinas ponedoras, el 50% de la Zeaxantina y el 80% de la CX se situaron en el ovario.

### **7.3 Incubación**

El periodo de incubación está asociado a procesos de estrés oxidativo en el embrión, principalmente la lipoperoxidación, debido a la alta concentración de PUFAs y la exposición a altas tasas de oxígeno. Actualmente, el uso de antioxidantes como vitaminas y carotenoides en la etapa de incubación, ha sido

tema de estudio a nivel internacional con características experimentales propias, como la línea y edad de las aves, tipo y fuente del antioxidante, entre otras.

- **Porcentaje de fertilidad e incubabilidad**

En el presente estudio, el porcentaje de fertilidad no se vió afectado por la adición de cantaxantina en la alimentación de reproductoras Isa Brown, resultados similares fueron los obtenidos Pizzey y Bédécarrats (2007) y Zhang *et al.* (2011); por el contrario, Soto *et al.* (2011), Rosa *et al.* (2012) y Souza *et al.* (citado por Hernández *et al.*, 2010) encontraron mejores resultados en aves que presentaban adición de cantaxantina en la dieta.

Investigaciones han demostrado, que la fertilidad de las hembras depende principalmente de la capacidad de almacenar y mantener poblaciones adecuadas de espermatozoides viables en los túbulos de almacenamiento, situado en la unión útero vaginal. Desde el punto de vista funcional, la hembra requiere de un complejo sistema antioxidante adecuado para mantener la supervivencia y potencial reproductivo de los espermatozoides, ya que estas células contienen altos niveles de PUFAs que las hacen susceptibles a la lipoperoxidación, lo cual esta correlacionado con la infertilidad masculina (Bréque *et al.*, 2003; Bréque *et al.*, 2006; Khan, 2011).

En esta investigación, la adición de 6 ppm de CX en la alimentación de reproductoras Isa Brown mostró efecto sobre el porcentaje de incubabilidad, mejorando en 9% el porcentaje de pollos nacidos, relacionado a lo obtenido por Surai (2012b). Rosa *et al.* (2012) demostraron que al emplear 6 ppm de CX en aves de la estirpe Cobb 500, el porcentaje de incubabilidad mejoró aproximadamente 3.2%.

Scher *et al.* (2009) evaluaron el efecto de la suplementación de 25-(OH)D<sub>3</sub>, CX y 25-(OH)D<sub>3</sub> más CX, en dietas reproductoras de la estirpe Cobb 500 en un periodo



de 20 semanas; obteniendo mejores porcentajes de incubabilidad y fertilidad en las aves alimentadas con mezcla de 25-(OH)D<sub>3</sub> más CX.

La suplementación materna con carotenoides y vitaminas con acción antioxidante en las aves, ha demostrado diversos beneficios en la etapa embrionaria, principalmente durante el desarrollo postnatal temprano (Karadas *et al.*, 2006; Karadas *et al.*, 2005a; Karadas *et al.*, 2005b; Surai *et al.*, 2003), cumpliendo con diversas funciones entre las que se encuentran proliferación y diferenciación celular, formación del sistema antioxidante, regulación de la comunicación intracelular, funciones inmunológicas, importantes para el desarrollo embrionario y la viabilidad del ave al nacer (Surai, 2012b).

- **Porcentaje de mortalidad, huevos picados no nacidos y huevos contaminados**

La mortalidad embrionaria a lo largo del periodo de incubación, no se vió afectada por la adición de cantaxantina en la dieta materna, resultados similares fueron los obtenidos por Soto *et al.* (2011), al adicionar 6mg/kg de cantaxantina en dietas para pavos de la estirpe But. Pizzey y Bédécarrats. (2007) indicaron que al adicionar 0, 30 y 120 ppm de luteína no observaron efecto significativo en la mortalidad embrionaria temprana, media y tardía. Sin embargo, Rosa *et al.* (2012) evidenciaron durante los días 15 y 21 de incubación, una menor mortalidad en embriones procedentes de madres alimentadas con adición de CX.

Durante el transcurso de la incubación los embriones están expuestos a cambios fisiológicos, bioquímicos y metabólicos necesarios para el correcto desarrollo. Este proceso está caracterizado por grandes cambios adaptativos, como el cambio de respiración corioalantoidea a pulmonar, la exposición a altas tasas de oxígeno atmosférico y un aumento en la tasa del metabolismo oxidativo, situaciones que pueden conducir a la producción de radicales libres y al crecimiento inadecuado del embrión (Surai *et al.*, 1999).

En el presente estudio, el porcentaje de huevos picados no nacido, no se vió influenciado por la adición de CX en la dieta materna, resultados similares fueron obtenidos por Soto *et al.* (2011) y Rosa *et al.* (2012); para la variable porcentaje de huevo contaminado, la dieta experimental no presentó efecto, contrario a lo reportado por Rosa *et al.* 2012. Investigaciones realizadas por Cucco (citado por Rosa *et al.*, 2012) en la Perdiz gris (*Perdix perdix*) con suplementación de 2.7 mg/kg de  $\beta$ -caroteno, observaron una mayor concentración de lisozima, enzima con actividad antibacteriana, en la albúmina de huevos puestos por las hembras con un alto suministro de  $\beta$ -caroteno, resultando en una mejor tasa de incubabilidad y menor mortalidad embrionaria.

#### **7.4 Primera semana de los pollos**

- **Parámetros productivos**

Durante la presente investigación, no se observó efecto de la dieta materna sobre los parámetros productivos de los pollos en la primera semana de vida. Ensayos realizados por Robert *et al.* (2010), Rosa *et al.* (2012) y Hernandez (2009) notaron que la suplementación de 6ppm de CX en reproductores de las estirpes Ross y Cobb no afectó el peso al nacimiento de la descendencia. Sin embargo diversos estudios se han realizado sobre el uso de carotenoides en dietas maternas, pero ninguno de ellos evaluando los parámetros productivos de la progenie, por el contrario indican la importancia y beneficios sobre el sistema antioxidante después del nacimiento (Karadas *et al.*, 2006; Karadas *et al.*, 2005b; Karadas *et al.*, 2005a; Karadas *et al.*, 2011; Surai *et al.*, 1996; Surai y Sparks, 2001a; Surai y Speake, 1998; Surai *et al.*, 2001).

- **Color y peso de hígado y saco vitelino en embriones de 18 días y pollos de 1 y 7 días posteclosión**

La distribución de la pigmentación en aves, está dada por la concentración de carotenoides en la dieta (Surai *et al.*, 2003). Zhang *et al.* (2011) indicaron que 6mg/kg de CX en dieta de gallinas, demostró una puntuación más alta de color en

la piel del pollo, empleando el abanico de color de Roche, tal efecto se prolongó durante al menos 7 días después de la eclosión.

El color rojo del hígado de embriones de 18 días y pollos de 1 y 7 días posteclosión, estuvo influenciado por la adición de CX en la dieta de gallinas Isa Brown. Estudios han indicado que carotenoides como la cantaxantina se transfieren de forma efectiva, a partir de la yema de huevo para el embrión en desarrollo, y de allí se distribuye en el hígado y plasma durante los 21 días de desarrollo (Soto *et al.*, 2011; Rocha *et al.*, 2012; Surai *et al.*, 2001), alcanzando la concentración máxima de carotenoides en el momento de la eclosión (Karadas *et al.*, 2006). En dietas con suplementación de algunos antioxidantes como vitamina E y CX, se ha demostrado que existe una interacción positiva entre ellos, al aumentar el contenido de CX en la dieta se observó una mejor transferencia y asimilación de  $\gamma$ -tocoferol en el hígado del embrión a los 16 días de desarrollo (Surai *et al.*, 2003). Soto *et al.* (2011) observaron que después de la eclosión y hasta los 7 días de edad, aumentó la concentración de CX en el hígado y plasma de pollos provenientes de madres con suplementación de carotenoides.

Estudios realizados por Surai *et al.* (2003) demostraron que la inclusión de cantaxantina en la dieta materna provoca una respuesta dependiente de la dosis empleada en términos de su acumulación en la yema de huevo. Durante el desarrollo embrionario, los carotenoides contenidos en los lípidos son transferidos desde de la yema de huevo al saco vitelino y posteriormente al embrión en desarrollo. Su función es servir de reserva de nutrientes, necesarios para el correcto desarrollo del embrión (Surai *et al.*, 1996). En el presente estudio el color rojo de la yema de huevo al igual que el saco vitelino en los días 18 de desarrollo embrionario y 1 posteclosión, se vió influenciado por la adición de CX en la dieta materna.

## 7.5 Pruebas de estrés oxidativo

El nivel antioxidante del embrión y del pollo, es un reflejo del nivel antioxidante del huevo. Durante el almacenamiento del huevo, estudios han reportado valores altos de TBARS, cuando estos han estado almacenados por periodos de 10 días (Cherian *et al.*, 1996) y 15 días (Rosa *et al.*, 2012), lo que conlleva a una menor capacidad de eclosión.

Durante la incubación, los tejidos embrionarios son ricos en PUFAs, principalmente el saco vitelino por ser la principal fuente de energía (a través de la oxidación de ácidos grasos) y la única fuente de lípidos para el crecimiento prenatal (Yadgary *et al.*, 2010), es durante este periodo que empieza la formación de ERO's y RL, iniciando reacciones en cadena como la lipoperoxidación (Rocha *et al.*, 2010).

Se ha demostrado que varios antioxidantes, como los carotenoides, ácido ascórbico, glutatión, enzimas con actividad antioxidante (superóxido dismutasa, glutatión peroxidasa y catalasa), selenio y vitamina E, pueden proporcionar un efecto protector contra la lipoperoxidación en los tejidos embrionarios (Surai y Speake., 1998; Zhang *et al.*, 2011; Karadas *et al.*, 2011). En el presente estudio, los resultados demuestran que la cantaxantina tiene efecto antioxidante en embriones de 18 días de desarrollo cuando es adicionada en la dieta materna. Muestra de esto es que la capacidad antioxidante aumentó y disminuyó la lipoperoxidación en el hígado de estas aves, resultados similares fueron los obtenidos por Blount *et al.* (2002) al emplear 2mg de carotenoides en dietas para (*Larus fuscus* L.).

Por el contrario Surai *et al.* (1998), evidenciaron un aumento en la lipoperoxidación lipídica en embriones de 18 días de desarrollo, descendientes de madres suplementadas con 30 y 120 µg de vitamina A, atribuido a un desequilibrio de los antioxidantes naturales (vitamina E, ácido ascórbico y carotenoides) en el hígado

embrionario, sin embargo; este daño oxidativo no fue detectable en aves de 1 día posteclosión.

El hígado de embrión de pollo acumula grandes fragmentos de lípidos en forma de gotas citoplasmáticas, proporcionando así un medio intracelular adecuado para el almacenamiento de altas cantidades antioxidantes solubles en lípidos (Surai *et al.*, 1996). Durante esta etapa, el desarrollo de una capacidad antioxidante en los tejidos del embrión debe ser eficaz, no sólo para la protección contra el daño lipoperoxidativo durante la embriogénesis, sino también como una preparación para el aumento de las especies reactivas de oxígeno y radicales libres en el período neonatal (Surai *et al.*, 2010; Karadas *et al.*, 2005a; Karadas *et al.*, 2005b).

Estudios de Roberts *et al.* (2007, Citado por Hernandez *et al.*, 2010) y Robert *et al.* (2010), en aves de 1 día posteclosión, revelaron que el estatus antioxidante del suero sanguíneo, medido a través del análisis de TBARS y la prueba de Randox, mostraba una mayor actividad antioxidante en pollos provenientes de gallinas alimentadas con cantaxantina, disminuyendo así el estrés oxidativo de estos animales. Sin embargo, en el presente estudio la capacidad antioxidante decreció en aves de 1 día posteclosión, nacidas de madres suplementadas con adición de CX, a pesar de esto los niveles de lipoperoxidación se encontraron por debajo de las aves del grupo control.

Al contrario, Karadas *et al.* (2006) demostraron que la inclusión de carotenoides naturales en la dieta de codornices, se asoció con un aumento significativo en la concentración de carotenoides en la yema de huevo, y más importante aún, en el hígado de los pollos recién nacidos.

La suplementación materna con carotenoides ha mostrado efectos sobre el estado antioxidante en los tejidos del ave, durante el nacimiento y extendiéndose al menos una semana después de la eclosión, En especies precoces como las aves, los antioxidantes juegan un papel fundamental durante y justo después de la

eclosión, debido al aumento de la tasa metabólica y el consumo de oxígeno, para satisfacer las demandas endotérmicas y de locomoción, lo que produce de forma rápida un estado de estrés oxidativo (Karadas *et al.*, 2005b), además, cualquier retraso en el acceso a los alimentos y/o al agua, después de la eclosión, así como la vacunación, sexaje y transporte al área de crianza puede resultar en un estrés adicional (Karadas *et al.*, 2011).

A pesar de que la capacidad antioxidante total fue mayor en las aves de 7 días, descendientes de madres con adición de CX, el daño por peroxidación en el hígado fue mayor en estas aves, inverso a lo propuesto por Zhang *et al.* (2011), demostrando que la dieta materna enriquecida con CX influyó significativamente en la actividad de enzimas antioxidantes y la disminución de las reacciones lipoperoxidativas en los pollitos recién nacidos, observando este efecto positivo hasta 7 días después de la eclosión. La mejora del sistema antioxidante en el pollo, como resultado de la suplementación materna con CX, presenta grandes oportunidades para los productores de aves de corral (Surai, 2012b).

La vitamina C (ácido ascórbico) es un antioxidante soluble en agua que normalmente es sintetizado por las aves (Khan, 2011); sin embargo, en animales jóvenes y en situaciones de estrés (estrés por calor, por manejo, por enfermedad, por hacinamiento, entre otras), su síntesis puede ser limitada (Pérez y García, SF; Khan, 2011; Altan *et al.*, 2003).

Durante la presente investigación el nivel total de vitamina C estuvo influenciado por la adición de cantaxantina en la dieta materna en embriones de 18 días de desarrollo embrionario. Durante esta etapa, el sistema antioxidante incluye las vitaminas A, E y C, carotenoides y enzimas antioxidantes como SOD, GPx y CAT. Estos antioxidantes probablemente actúan sinérgicamente, protegiendo de los efectos de la lipoperoxidación y preservando la integridad de la membrana celular (Surai *et al.*, 1998). Khan. (2011), indica que el ácido ascórbico contribuye en un 65% a la capacidad antioxidante en el plasma.

Estudios realizados por Surai *et al.* (1996) demostraron que la concentración tisular de ácido ascórbico alcanzó su punto máximo durante el día 8 de desarrollo embrionario y a partir de ahí disminuyó de forma continua. El cerebro muestra un marcado aumento en el contenido de ácido ascórbico entre los días 8 y 13 y durante la última semana de desarrollo embrionario es más alto que en otros tejidos como hígado, riñón, pulmón y corazón.

En la actual investigación durante el día 18 de desarrollo embrionario la capacidad total de antioxidantes fue mayor para los embriones proveniente de madres alimentadas con adición de cantaxantina, sin embargo, para estos mismo embriones la cantidad de ácido ascórbico fue menor que la dieta control. Se tuvieron los mismos resultados durante el día 1 post eclosión. Actuales investigaciones proponen una interacción entre vitaminas antioxidantes, reciclando continuamente la forma oxidada de vitamina E por medio de la vitamina C (Surai *et al.*, 1998; Surai *et al.*, 2010), que se traduce en menor daño oxidativo y en este caso particular menores niveles de lipoperoxidación.

No obstante, al día 7 de incubación las aves descendientes de madres que recibieron la dieta experimental presentaron un aumento en el valor de vitamina C, al compararse con aves provenientes del tratamiento control. Durante la primera semana de vida de los pollos, la vitamina C ayuda al crecimiento del ave y desarrollo de los huesos. En situaciones de estrés por calor, el uso de ácido ascórbico en pollos de engorda puede tener un efecto positivo sobre la productividad debido a que mejora la respuesta inmune de los animales (Farooqi *et al.*, 2005). Además, el uso de vitamina C ayuda a mejorar la actividad antioxidante de la vitamina E, porque reduce los radicales tocoferoxil a su forma activa de vitamina E (Lesson y Summers, 2001).

## 8. CONCLUSIONES

La adición de 6 ppm de cantaxantina en la dieta de gallinas reproductoras Isa Brown mejora el porcentaje de huevo incubable, pero no tiene efecto sobre los otros parámetros productivos de las aves.

El enrojecimiento de la yema de huevo de gallinas reproductoras Isa Brown, se puede modular con adición de 6 ppm de cantaxantina en la dieta, sin embargo, esta cantidad no tiene efecto sobre el grosor de cascarón y unidades Haugh.

Durante la incubación de huevos provenientes de gallinas reproductoras Isa Brown, con adición de cantaxantina no se presentó efecto sobre el porcentaje de fertilidad, mortalidad embrionaria, huevos contaminados y huevo picado no nacido; no obstante, mostró un aumento aproximado de 9% en el porcentaje de incubabilidad.

La adición de cantaxantina en la dieta de gallinas reproductoras Isa Brown, no tuvo efecto sobre los parámetros productivos de la progenie en la primera semana posteclosión.

Se obtuvo efecto antioxidante en embriones de 18 días de desarrollo y pollos de 1 día posteclosión, provenientes de gallinas reproductoras Isa Brown que fueron suplementadas con 6ppm en la dieta, sin embargo este efecto no fue suficiente para disminuir los niveles de lipoperoxidación en el hígado de pollos de 7 días posteclosión.

A consecuencia de la adición de cantaxantina, aumento el total de ácido ascórbico en el hígado de pollos de 7 días posteclosión, sin embargo este incremento no se observó en aves de 1 día posteclosión y embriones de 18 días.



## 9. REFERENCIAS

1. Altan O, Pabuccuoglu A, Altan A, konyalioglu S y Bayraktar H. Effect of heat stress on oxidative stress, lipid peroxidation and some stress parameters in broiler. *British Poultry Science* Volume 44, Number 4. 545-550pp. September. 2003.
2. Becker P. Cantaxantina e 25-Hidroxicolecalciferol e seus efeitos sobre os aspectos reproductivos de galos. [Tesis Maestría]. Santa Maria, RS, Brasil. Universidade federal de Santa Maria; 2010
3. Benzie F y Strain J. The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of “Antioxidant Power”. *Analytical Biochemistry* 239, 70–76. Article no. 0292. 1996
4. Benzie I y Strain J. *Methods Enzymol*; 299: 15-27.1999
5. Bigot K, Tesseraud S, Taouis M, Picard M. Alimentation néonatale et développement précoce du poulet de chair. *INRA Prod. Anim*; 14 (4): 219-230. 2001
6. Blount J, Surai P, Houston D y Moller A. Patterns of yolk enrichment with dietary carotenoids in gulls: the roles of pigment acquisition and utilization. *British Ecological Society. Functional Ecology* 16, 445-453. 2002
7. Borda B. Uso de cantaxantina e/ou 25-Hidroxicolecalciferol em dietas para matrizes de corte. [Tesis Maestría]. Santa Maria, RS, Brasil. Universidade federal de Santa Maria; 2011
8. Bradford MM. A rapid sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem*; 72: 248-254. 1976.
9. Bréque C, Surai P y Brillard J. Roles of Antioxidants on Prolonged Storage of Avian Spermatozoa In Vivo and In Vitro. *Molecular Reproduction and Development*. 66:314–323. 2003

10. Bréque C, Surai P y Brillard J. Antioxidants status of the lower oviduct in the chicken varies with age and dietary vitamin E supplementation. *Molecular Reproduction and Development*. 73:1045–1051. 2006
11. Carreras. Influencia de la suplementación de antioxidantes y de la administración de enrofloxacina en la calidad y seguridad de la carne de ave. [Tesis Doctoral]. Universitat de Girona. Departament de Química. 2004
12. Cherian, G., F. H. Wolfe, y J. S. Sim. Feeding dietary oils with tocopherols: Effects on internal qualities of eggs during storage. *Food Sci*. 61:15–18. 1996
13. Chihuailaf H, Contreras A y Wittwer G. Patogénesis del estrés oxidativo: Consecuencias y evaluación en salud animal; *Vet. Méx.*, 33 (3). 265-283. 2002
14. Cucco, M, Guasco B, Malacarne G y Ottonelli R. Effects of  $\beta$ -carotene on adult immune condition and antibacterial activity in the eggs of the Grey Partridge, *Perdix perdix*. *Comp. Biochem. Physiol. A Mol. Integr. Physiol*. 147:1038–1046. 2007
15. Daniel W. *Bioestadística: Base para el análisis de las ciencias de la salud*. Editorial Limusa S.A de C.V. 1989
16. Defas A y Puruncajas D. Evaluación de vitamina D3 y su metabolito 25-Hidroxi-D3 (Hy-D<sup>®</sup>) en la productividad de pollos de engorda. . [Tesis de licenciatura]. Zamorano, Honduras. Escuela Agrícola Panamericana; 2006
17. Dorado M, Rugerio V y Rivas A. Estrés oxidativo y neurodegeneración. *Rev Fac Med UNAM* Vol.46 No.6 Noviembre-Diciembre. 2003
18. Farooqi H, Khan A, Khan S, Rabbani M, Pervez K y Khan J. Evaluation of betaine and vitamine C in alleviation of heatsress in broilers. *Int. J. Agr. And Biol*. 7 (5): 744-746. 2005
19. Fasenko M. Egg Storage and the Embryo. *Poultry Science* 86:1020–1024. 2007
20. Fellenber M. Carne de pollo; importancia y prevención de su oxidación. *Mundo Lácteo y Carnico*. Julio/Agosto. 2008

21. Galobart J, Barroeta A, Baucells M y Guardiola F. Lipid oxidation in fresh and spray-dried eggs enriched with  $\omega$ 3 and  $\omega$ 6 polyunsaturated fatty acids during storage as affected by dietary vitamin E and canthaxanthin supplementation. *Poultry Science* 80:327-337. 2001
22. García B, García L, Rojo D, Sánchez G. Plantas con propiedades antioxidantes. Ciudad de la Habana jul.-sep. *Rev Cubana Invest Bioméd* v.20 n.3. 2001
23. Garcia E, Mendes A, Pizzolante C, Gonçalves H, Oliveira R, Silva, M. Efeito dos níveis de Cantaxantina na dieta Sobre o desempenho e qualidade dos ovos de poedeiras comerciais. *Revista Brasileira de Ciência Avícola*, vol. 4, núm. 1, enero-marzo, pp. 1-7. 2002
24. Gutteridge JM. The use of Standards for Malonyldialdehyde. *Anal Biochem*; 69: 518-526. 1975
25. Halaj M, Halaj P, Valasek F, Moravcik F, Melen M. The effect of synthetic pigment addition to feed on the color of hen egg yolk. *Czech Journal of Animal Science*. 44:187-92. 1999
26. Hallwell B y Chirico S. Lipid peroxidation: its mechanism, measurement and significance. *Am J Clin Nutr*. 57 (suppl): 71S-75S. 1993
27. Halliwell B y Gutteridge JMC. *Free Radicals in Biology and Medicine*, 3a edición, Oxford: Oxford University Press; 1999.
28. Hansberg, W. Biología de las especies de oxígeno reactivas. *Mensaje Bioquímico*. Vol 26. 2002
29. Hernández J, Soto-Salanova M y Ibarra B. Más y mejores pollitos en la producción avícola actual. *Selecciones Avícolas*. p 31-34. Marzo 2010.
30. Hernández L. Efecto de la suplementación con cantaxantina en piensos de reproductoras pesadas en producción y sobre la viabilidad de su progenie. [Tesis Maestría]. Valencia, España: Universidad Politécnica de Valencia; 2009
31. IBM® SPSS® Statistics 16. © Copyright IBM Corporation 1989, 2010.

32. Institute of Medicine. *Dietary reference intakes for vitamin C, vitamin E, selenium, and carotenoids*. Washington, D.C.: National Academy Press. 2000.
33. Instituto Nacional de Estadística Geografía e Informática. Tláhuac: cuaderno de información básica delegacional. México DF INEGI. 1992.
34. Jakota S y Dani H. A new colorimetric technique for the estimation of vitamin C using folin phenol reagent. *Analytical biochemistry* 127: 178-182. 1982.
35. JMP™ Design of Experiments, Version 5.0. The Statistical Discovery Software™. Copyright © by SAS Institute Inc. Cary, NC, USA. 2002
36. Karadas F, Nicholas W, Surai P y Nicholas H. Tissue-specific distribution of carotenoids and vitamin E in tissues of newly hatched chicks from various avian species. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A* 140: 506–511. 2005a
37. Karadas F, Pappas A, Surai P y Speake B. Embryonic development within carotenoid-enriched eggs influences the post-hatch carotenoid status of the chicken. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part B* 141: 244 – 251. 2005b
38. Karadas F, Surai P, Grammenidis E, Sparks N y Acamovic T. Supplementation of the maternal diet with tomato powder and marigold extract: effects on the antioxidant system of the developing quail. *British Poultry Science*. Volume 47, Number 2 (April). pp 200-206. 2006
39. Karadas F, Surai P y Sparks N. Changes in broiler chick tissue concentrations of lipid-soluble antioxidants immediately post-hatch. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A* 160: 68–71. 2011
40. Khan R. Antioxidants and poultry semen quality. *World's Poultry Science Journal*, Vol. 67, June 2011.
41. Konigsberg M. *Radicales libres y estrés oxidativo aplicaciones médicas*. México. Manual Moderno. 2008.
42. Kuehl O.R. *Diseños de Experimentos*. 2ª edición. McGraw-Hill. México. 2001.

43. Labier M y Leclercq B. *Nutrition and feeding of poultry*. Nohingham University. 1992
44. Leeson S y Summers J. *Nutrition of the chicken*. 4<sup>a</sup> ed. Guelph, Ontario Canada. University Books. 320-330pp. 2001
45. Leeson S y Summers J. *Commercial poultry Nutrition*. 3<sup>rd</sup> ed. Guelph, Ontario Canada. University Books. 449-451pp. 2005
46. Montgomery M, Buttermer W y Hulbert A. Does the oxidative stress theory of aging explain longevity differences in birds? II. Antioxidant systems and oxidative damage. *Experimental Gerontology* 47; 211-222. 2012
47. Martinez MA. Carotenoides. Universidad de Antioquia, Medellin. Febrero de 2003.
48. Mathews C, Van Holde K, Ahern K. *Bioquímica Mathews*. 3<sup>a</sup> edición. Pearson educación. Jan1, 2002.
49. McLean J, Karadas F, Surai P, McDevitt R y Speake B. Lipid-soluble and water-soluble antioxidant activities of the avian intestinal mucosa at different sites along the intestinal tract. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part B* 141, p366 – 372. 2005
50. Meléndez MJ, Vicario IM y Heredia JR. Pigmentos carotenoides: consideraciones estructurales y fisicoquímicas. ARCHIVOS LATINOAMERICANOS DE NUTRICIÓN: Órgano Oficial de la Sociedad Latinoamericana de Nutrición. Vol. 57 N° 2, 2007.
51. Metcalfe N y Monaghan P. Does reproduction cause oxidative stress? An open question. *Trends in Ecology & Evolution*. Vol. 28. Num. 6. 347-350. 2013
52. Montero M. Los radicales libres y las defensas antioxidantes. Departamento de Bioquímica y Biología Molecular. Universidad de Santiago de Compostela. España. Vol. 57, N°4. 1996
53. Moran E, Jr. Nutrition of the Developing Embryo and Hatchling. *Poultry Science* 86:1043–1049. 2007

54. Morrison D. *Multivariate statistical methods*. Tercera edición. New York: McGraw-Hill. 1990
55. Naranjo C. Extracción de pigmentos de residuos de cangrejo azul (*Canellectes sapidus*) fermentados y no fermentados. [Tesis Doctoral]. México. Universidad Autónoma Metropolitana. 2002
56. Nava C. Efecto antioxidante del zinc en pollos de engorda criados en un ambiente cálido. [Tesis Maestría]. México, Distrito Federal. Universidad Nacional Autónoma de México; 2011
57. Pérez M y Gacía D. Vitaminas en la alimentación de las aves. Avance del libro en preparación: La ciencia de la nutrición. Real Escuela de la Avicultura. Disponible en internet [www.AVICULTURA.COM]. SF
58. Perez G y Pérez De A. Métodos para medir el daño oxidativo. Ciudad de la Habana sep.-dic. *Rev Cub Med Mil* v.29 n.3. 2002
59. Pizzey H y Bédécarrats. Study of the effects of dietary lutein on reproductive performances in chickens. *The Journal of Poultry Science*, 44: 409-415. 2007
60. Quintana, J. *Avitecnia: manejo de las aves domésticas más comunes*. Editorial Trillas. 4a Edición. p 231-233. 2011
61. Quintanar E y Calderón S. La capacidad antioxidante total. bases y aplicaciones. *REB* 28(3): 89-101. 2009
62. Ramos M, Batista C, Gómez B y Zamora A. Diabetes, estrés oxidativo y antioxidantes. Artículo de Revisión. Mediagraphic artemisa. Vol 8. Número 1. Abril, 2006.
63. Robert F, Panheleux-Le Bastard M, Hamelin C y Boulard C. Effects of canthaxanthin supplementation in the ROSS breeder diet on oxidative stress of chicks. In *Proceedings of the 16th European symposium on poultry nutrition* (pp. 731-734) 2010.
64. Rocha, J. Lara N, Baiao R, Vasconcelos V, Barbosa M, Pompeu N y Fernandez M. Antioxidant properties of vitamins in nutrition of broiler breeders and laying hens. *World's Poult. Sci. J.* 66:261-270. 2010

65. Rosa AP, Scher A, Sorbara JO, Boemo LS, Forgiarini J y Londero A. Effects of canthaxanthin on the productive and reproductive performance of broiler breeders. *Poultry Science* 91: 660–666. 2012
66. Sánchez A, Flores L, Langley E, Marín R, Maldonado G y Sánchez S. Carotenoides: Estructura, función, biosíntesis, regulación y aplicaciones. *Revista Latinoamericana de Microbiología* 41: 175-191. 1999
67. Scher A *et al.* Efeitos da adição de HyD e Carophyll Red á dieta de matrizes de corte sobre a incubação artificial. In: Conferencia Apinco de Ciencia e Tecnologia Avícolas: Premio Lamas, 2009. Porto Alegre. 2009
68. Shih C, Chang J, Yang S, Chou T y Cheng H.  $\beta$ -Carotene and canthaxanthin alter the pro-oxidation and antioxidation balance in rats fed a high-cholesterol and high-fat diet. *British Journal of Nutrition*, 99, 59–66. 2008
69. Smits CHM, Soto-Salanova M, Flores A, Huurne AAHM. Modulación a través de la dieta del confort intestinal de los pollitos. XV Curso de Especialización Avances en nutrición y alimentación animal. Fundación española para el desarrollo de la nutrición animal: Rebollar P, Blas C, Mateos G. Madrid España. p83-112. 1999
70. Soto M, Hamelin C, Briere S, Leveque G y Hernandez J. Efecto de la suplementación de 25-hidroxi-colecalciferol y cantaxantina sobre los resultados productivos de pavos reproductores y sobre la calidad de pavitos de un día. XLVIII Simposio científico de avicultura. Santiago de Compostela. 5 al 7 de octubre de 2011.
71. Surai P, Noble R y Speake B. Tissue-specific differences in antioxidant distribution and susceptibility to lipid peroxidation during development of the chick embryo. *Biochimica et Biophysica Acta* 1304; 1-10. 1996
72. Surai P y Speake B. Distribution of carotenoids from the yolk to the tissues of the chick embryo. November. *J. Nutr. Biochem*, vol. 9: 645-651. 1998
73. Surai P, Ionov A, Kuklenko I, MacPherson A, Speake B, Noble R y Sparks N. Effect of supplementing the hen's diet with vitamin A on the accumulation

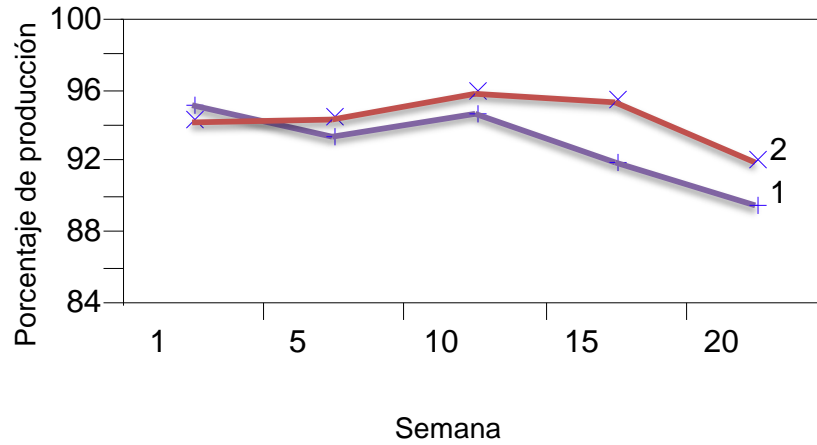
- of vitamins A and E, ascorbic acid and carotenoids in the egg yolk and in the embryonic liver. *British Poultry Science*. 39: 257-263. 1998
74. Surai P, Speake B, Noble R y Sparks N. Tissue- Specific antioxidante profiles and susceptibility to lipid peroxidation of the newly hatched chick. *Biological Trace Element Research*. Vol 68: 63-78. 1999
75. Surai P y Sparks N. Comparative evaluation of the effect of two maternal diets on fatty acids vitamin E and carotenoids in the chick embryo. *British Poultry Science* 42; 252-259. 2001
76. Surai P, Speake B, Wood N, Blount J, Bortolotti G y Sparks N. Carotenoid discrimination by the avian embryo: a lesson from wild birds. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B* 128; 743-750. 2001
77. Surai A.P, Surai P.F, Steinberg W, Wakeman W, Speake B y Sparks N. Effect of canthaxanthin content of the maternal diet on the antioxidant system of the developing chick. *British Poultry Science*. Volume 44, Number 4 (September), pp. 612–619. 2003
78. Surai, P. Natural antioxidants in poultry nutrition: new developments. In *Proceedings of the 16th European symposium on poultry nutrition* (pp. 669-675) 2010
79. Surai P, Lisenko S, Speake B, Noble R y Sparks N. Lipid peroxidation and the antioxidant system of the brain of developing chicken embryo. *British Poultry Science*, 39:S1, 56-57, 2010
80. Surai P. The antioxidant properties of canthaxanthin and its potential effects in the poultry eggs and on embryonic development of the chick. Part 1. *World's Poultry Science Journal*, Vol. 68, September. 2012a
81. Surai P. The antioxidant properties of canthaxanthin and its potential effects in the poultry eggs and on embryonic development of the chick. Part 2. *World's Poultry Science Journal*, Vol. 68, December. 2012b
82. Surai P. The role of carotenoids in avian antioxidant system. V Congreso Clana. Puerto Vallarta, Jalisco, México • Octubre 26 al 23, 2012c



83. Venereo G. Daño oxidativo, radicales libres y antioxidantes. Ciudad de la Habana abr.-jun. *Rev Cub Med Mil* v.31 n.2. 2002
84. Yadgary L, Cahaner A, Kedar O, Uni Z.. Yolk sac nutrient composition and fat uptake in late-term embryos in eggs from young and old broiler breeder hens. *Poult Sci* 89: 2441–2452. 2010
85. Zhang W, Zhang K, Ding X, Bai S, Hernández J, Yao B y Zhu Q. Influence of canthaxanthin on broiler breeder reproduction, chick quality, and performance. *Poultry Science* 90 :1516–1522. 2011.

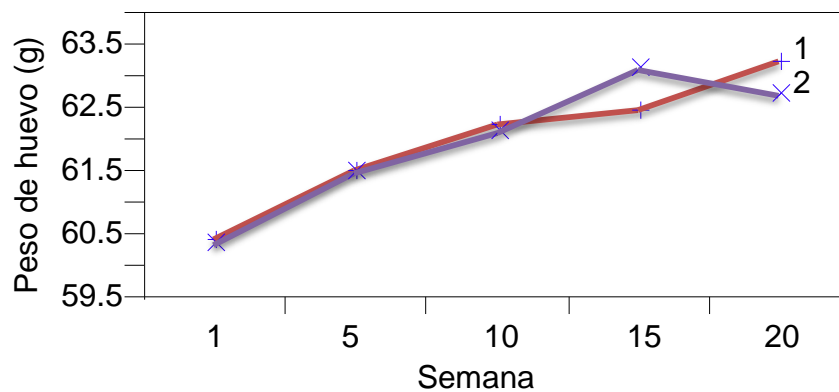
## FIGURAS

**Figura 6.** Porcentaje de producción obtenidos durante las semanas 1, 5, 10, 15 y 30 de experimentación.



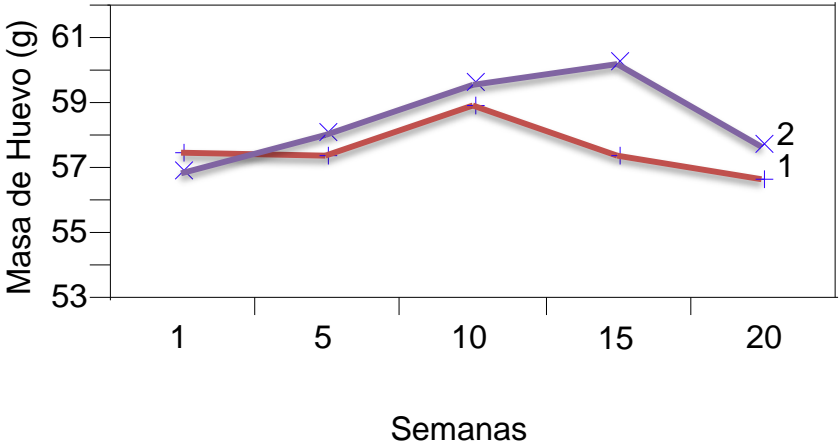
-Dieta Control (Tratamiento 1); - Dieta Experimental (Tratamiento 2)

**Figura 7.** Peso de huevo durante las semanas 1, 5, 10, 15 y 30 de experimentación.



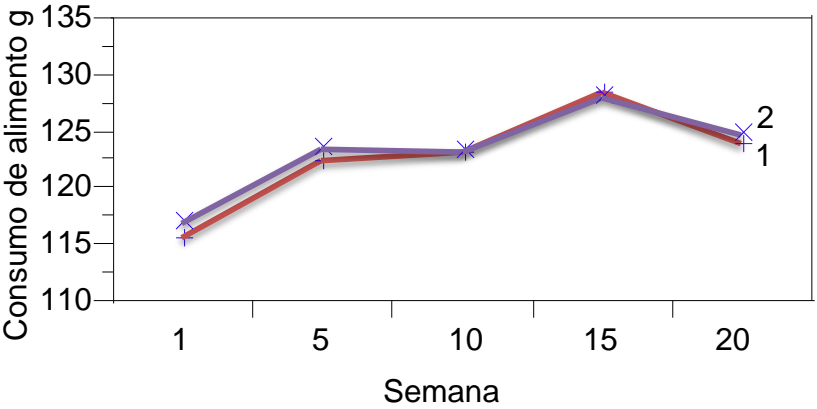
-Dieta Control (Tratamiento 1); - Dieta Experimental (Tratamiento 2)

**Figura 8.** Masa de huevo obtenida durante las semanas 1, 5, 10, 15 y 30 de experimentación.



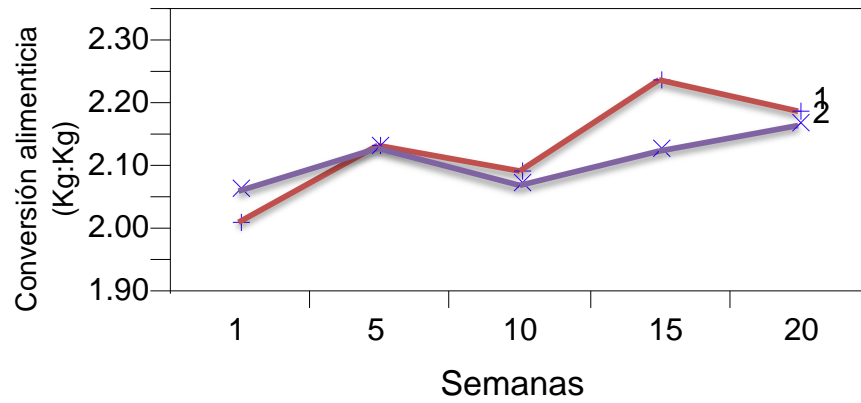
-Dieta Control (Tratamiento 1); - Dieta Experimental (Tratamiento 2)

**Figura 9.** Consumo de alimento obtenido durante las semanas 1, 5, 10, 15 y 30 de experimentación.



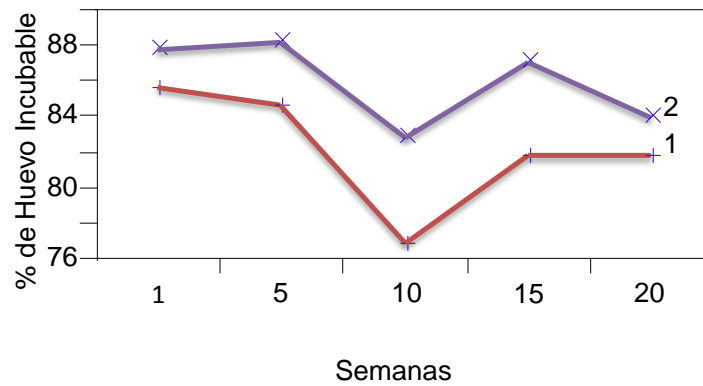
-Dieta Control (Tratamiento 1); - Dieta Experimental (Tratamiento 2)

**Figura 10.** Índice de conversión alimenticia obtenido durante las semanas 1, 5, 10, 15 y 30 de experimentación.



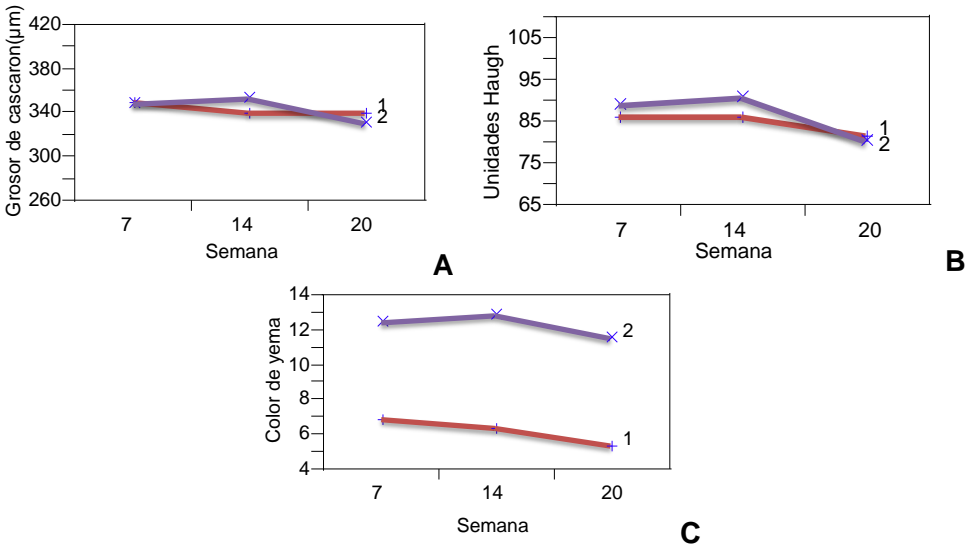
-Dieta Control (Tratamiento 1); - Dieta Experimental (Tratamiento 2)

**Figura 11.** Porcentaje de huevo incubable obtenido durante las semanas 1, 5, 10, 15 y 30 de experimentación.



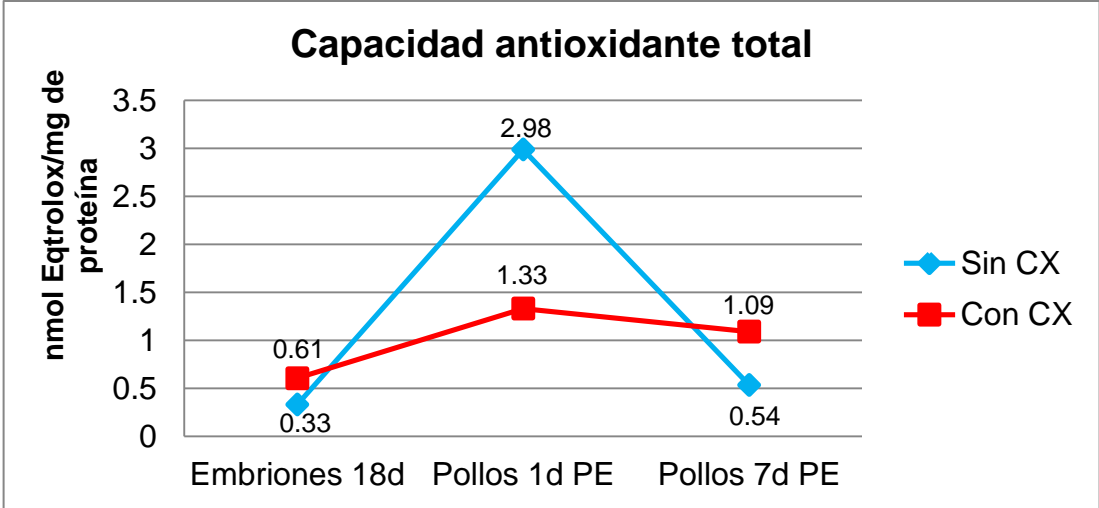
-Dieta Control (Tratamiento 1); - Dieta Experimental (Tratamiento 2)

**Figura 12.** Perfiles de las variables de calidad de huevo, grosor de cascarón (A), unidades Haugh (B) y color rojo de la yema (C) realizado durante las semanas 7, 14 y 20 de experimentación en gallinas reproductoras Isa Brown.

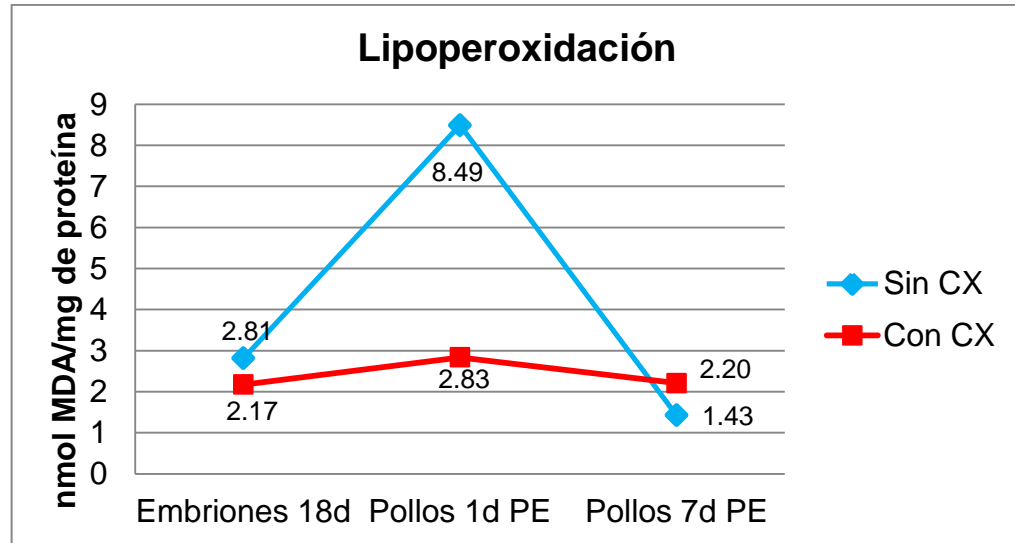


-Dieta Control (Tratamiento 1); - Dieta Experimental (Tratamiento 2)

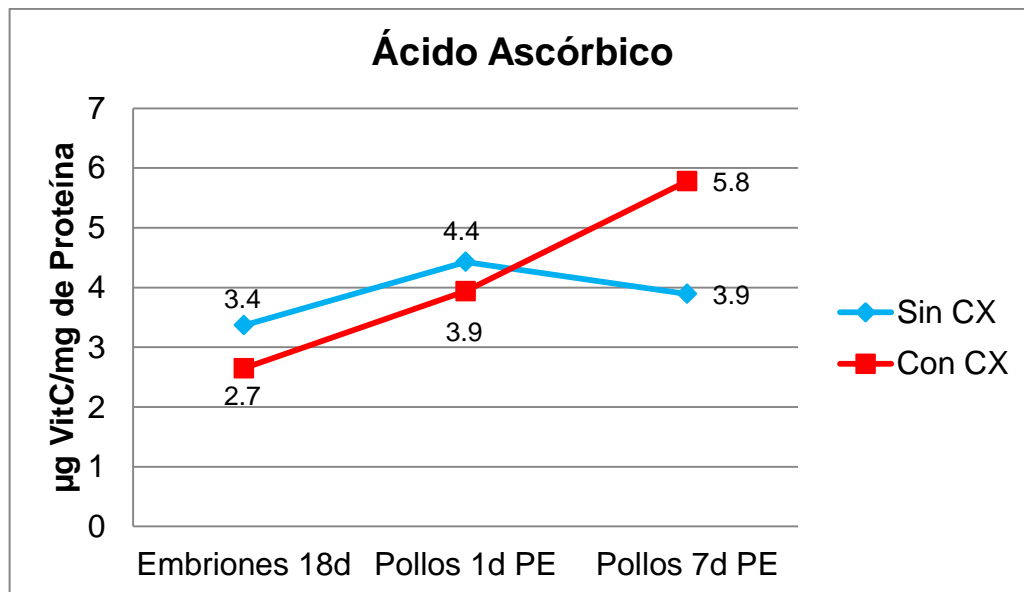
**Figura 13.** Capacidad antioxidante total en hígados de embriones de 18 días y pollos de 1 y 7 días posteclosión, provenientes de gallinas reproductoras Isa Brown.



**Figura 14.** Lipoperoxidación en hígados de embriones de 18 días y pollos de 1 y 7 días posteclosión, provenientes de gallinas reproductoras Isa Brown.



**Figura 15.** Ácido ascórbico en hígados de embriones de 18 días y pollos de 1 y 7 días posteclosión, provenientes de gallinas reproductoras Isa Brown.



## CUADROS

**Cuadro 1.** Composición de la dieta basal empleada en la alimentación de gallinas reproductoras.

<b>Materia prima</b>	<b>Peso kg</b>
Sorgo	643.681
Pasta de Soya	212.001
Carb. de calcio	100.470
Ortofosfato de calcio	16.752
Aceite vegetal	13.215
Sal	4.398
Premezcla de vitaminas y minerales*	3.000
DL-Metionina 99	2.671
L-Lisina HCl	1.562
Avelut (Pigmento)	1.000
Alquerfeed (Antioxidante)	0.600
Cloruro de colina 60%	0.500
Antioxidante	0.150

\* Ver Cuadro 3

**Cuadro 2.** Composición química de la dieta basal empleada en la alimentación de gallinas reproductoras

<b>Nutriente</b>	<b>Unidad</b>	<b>Valor</b>
Peso	%	100
Prot. Cru	%	16.0
Calcio	%	4.0
Fosforo Disponible	%	0.450
E.M. Aves	Kcal/kg	2,750
Metionina	%	0.507
Met+cist	%	0.763
Lisina	%	0.881
Triptófano	%	0.202
Treonina	%	0.585
Sodio	%	0,18
Cloro	%	0.36
Treonina dig.	%	0.479
Lisina dig.	%	0.788
Met+cis dig.	%	0.682
Triptófano dig.	%	0.175



**Cuadro 3.** Composición de las premezclas de vitaminas y minerales empleadas en las dietas de las reproductoras por tonelada de alimento.

		<b>Tratamiento control</b>	<b>Tratamiento experimental</b>
	<b>Unidades</b>	<b>Rovimix Repro Aves 11</b>	<b>Rovimix Repro Maxichick</b>
Vitamina A	UI	14,000,000	14,000,000
Vitamina D3	UI	3,500,000	2,500,000
Vitamina E	UI	100,000	100,000
Rovimix HyD	g	0.00	5.50
Vitamina K3	g	4.50	4.50
Vitamina B1	g	5.0	5.0
Vitamina B2	g	14.0	14.0
Vitamina B6	g	5.0	5.0
Vitamina B12	mg	30.0	30.0
Niacina	g	60.0	60.0
Ácido Pantotenico	g	20.0	20.0
Ácido Fólico	g	3.0	3.0
Biotina	mg	250.0	250.0
Colina	g	600.0	600.0
<b>Cantaxantina</b>	<b>g</b>	<b>0</b>	<b>6.0</b>
Hierro	g	60	60
Cinc	g	110	110
Manganeso	g	120	120
Cobre	g	10	10
Yodo	g	2	2
Selenio	g	0.30	0.30

Cortesía de DSM México.

**Cuadro 4.** Resultados promedios de las variables productivas de gallinas reproductoras semipesadas Isa Brown.

Variable	Tratamiento <sup>1</sup>		Significancia	
	Sin CX	Con CX	Tratamiento	Tiempo
Postura (%)	93.4	94.9	0.3989	0.9246
Peso de huevo (g)	62.1	62.0	0.9524	0.6944
Masa de huevo (g)	58.0	58.9	0.3239	0.8327
Consumo de alimento (g)	123.9	124.4	0.8462	0.1889
Índice de conversión (Kg:Kg)	2.13	2.11	0.7009	0.1466
Huevo incubable (%)	81.6 <sup>b</sup>	85.0 <sup>a</sup>	0.0407*	0.1575

\*Valores con letras diferentes presentan diferencias significativas (P<0.05)

<sup>1</sup>Tratamientos: Sin CX= Tratamiento control. Con CX= Tratamiento con adición de 6ppm de cantaxantina.

**Cuadro 5.** Resultados promedios de las variables de calidad de huevo de gallinas reproductoras semipesadas Isa Brown.

Variable	Tratamiento <sup>1</sup>						Significancia	
	Sin CX			Con CX			Tratamiento	Tiempo
Semana de experimentación	7	14	20	7	14	20		
Grosor de cascarón (µm)	348.9	340.2	339.5	348.8	352.6	330.5	0.8555	0.3490
Unidades Haugh	86.1	86.2	81.4	88.9	90.5	80.3	0.2863	0.2236
Color de la yema	6.8	6.3	5.4	12.4	12.8	11.5	<0.001*	0.0377*

\*Variable presenta diferencias significativas (P<0.05)

<sup>1</sup>Tratamientos: Sin CX= Tratamiento control. Con CX= Tratamiento con adición de 6ppm de cantaxantina.

**Cuadro 6.** Resultados promedios de las variables evaluadas durante la incubación de huevos provenientes de gallinas reproductoras Isa Brown.

Variable	Tratamiento <sup>1</sup>		Significancia
	Sin CX	Con CX	
%Fertilidad	97.7	98.2	0.6627
%Incubabilidad	54.6 <sup>b</sup>	63.6 <sup>a</sup>	0.0497*
Mortalidad Fase 1 %	5.3	5.3	0.9852
Mortalidad Fase 2 %	3.8	3.5	0.9217
Mortalidad Fase 3 %	23.2	18.4	0.1141
Picados no nacidos %	4.8	2.6	0.2583
Contaminados %	1.0	0.2	0.0876

\*Valores con letras diferentes presentan diferencias significativas (P<0.05)

<sup>1</sup>Tratamientos: Sin CX= Tratamiento control. Con CX= Tratamiento con adición de 6ppm de cantaxantina.

**Cuadro 7.** Color y peso del hígado y saco vitelino de embriones de 18 días de incubación provenientes de gallinas reproductoras Isa Brown.

Variable	Hígado			Saco Vitelino		
	Tratamiento <sup>1</sup>		Sig	Tratamiento <sup>1</sup>		Sig
	Sin CX	Con CX		Sin CX	Con CX	
Peso (g)	0.5	0.5	0.103	11.7	11.5	0.293
Enrojecimiento	12.3 <sup>b</sup>	18.2 <sup>a</sup>	0.000*	7.6 <sup>b</sup>	15.0 <sup>a</sup>	0.000*
Amarillamiento	24.2	23.9	0.855	30.8	32.6	0.381
Luminosidad	51.1 <sup>a</sup>	47.4 <sup>b</sup>	0.000*	43.4	43.8	0.757
Relación (%) (g tejido/peso ave)	0.9	0.9	0.244	22.7	22.5	0.202

\*Valores con letras diferentes presentan diferencias significativas (P<0.05)

<sup>1</sup>Tratamientos: Sin CX= Tratamiento control. Con CX= Tratamiento con adición de 6ppm de cantaxantina.

**Cuadro 8.** Resultados promedios del comportamiento de las aves evaluadas durante la primera semana de vida de pollos provenientes de gallinas reproductoras Isa Brown.

Variable	Tratamiento <sup>1</sup>		Significancia
	Sin CX	Con CX	
Peso Nacimiento (g)	39.2	39.6	0.4651
Peso Día 7 (g)	62.7	61.8	0.7495
Ganancia de Peso (g)	22.7	22.0	0.7738
Consumo de Alimento (g)	47.4	46.0	0.8031
Conversión alimenticia (kg:kg)	2.09	2.09	0.6250

<sup>1</sup>Tratamientos: Sin CX= Tratamiento control. Con CX= Tratamiento con adición de 6ppm de cantaxantina.

**Cuadro 9.** Color y peso del hígado y saco vitelino de pollos de 1 día de edad provenientes de gallinas reproductoras Isa Brown.

Variable	Hígado			Saco Vitelino		
	Tratamiento <sup>1</sup>		Sig	Tratamiento <sup>1</sup>		Sig
	Sin CX	Con CX		Sin CX	Con CX	
Peso (g)	0.9	0.9	0.922	5.8	6.5	0.134
Enrojecimiento	12.9 <sup>b</sup>	25.3 <sup>a</sup>	0.000*	1.4 <sup>b</sup>	7.7 <sup>a</sup>	0.000*
Amarillamiento	31.9	33.3	0.284	30.5	29.4	0.561
Luminosidad	55.4 <sup>a</sup>	51.0 <sup>b</sup>	0.000*	45.2	44.0	0.362
Relación (g tejido/peso ave)	2.4	2.3	0.281	14.8	16.3	0.175

\*Valores con letras diferentes presentan diferencias significativas (P<0.05)

<sup>1</sup>Tratamientos: Sin CX= Tratamiento control. Con CX= Tratamiento con adición de 6ppm de cantaxantina.

**Cuadro 10.** Color y peso del hígado en pollos de 7 días provenientes de gallinas reproductoras Isa Brown.

Variable	Hígado		
	Tratamiento <sup>1</sup>		Significancia
	Sin CX	Con CX	
Peso (g)	2.5 <sup>a</sup>	2.3 <sup>b</sup>	0.045*
Enrojecimiento	15.7 <sup>b</sup>	17.4 <sup>a</sup>	0.020*
Amarillamiento	16.3 <sup>b</sup>	18.5 <sup>a</sup>	0.015*
Luminosidad	42.7	42.0	0.298
Relación (g tejido/peso ave)	3.9	3.8	0.194

\*Valores con letras diferentes presentan diferencias significativas (P<0.05)

<sup>1</sup>Tratamientos: Sin CX= Tratamiento control. Con CX= Tratamiento con adición de 6ppm de cantaxantina.

**Cuadro 11.** Capacidad antioxidante total en hígados de embriones de 18 días y pollos de 1 y 7 días posteclosión, provenientes de gallinas reproductoras Isa Brown

Tratamiento <sup>1</sup>	Edad		
	Embriones 18d	Pollos 1d PE	Pollos 7d PE
<b>Sin CX</b>	0.33 <sup>b</sup>	2.98 <sup>a</sup>	0.54 <sup>b</sup>
<b>Con CX</b>	0.61 <sup>a</sup>	1.33 <sup>b</sup>	1.09 <sup>a</sup>
<b>Significancia</b>	0.000*	0.001*	0.000*
<b>CME</b>	0.027	1.262	0.134

\*Valores con letras diferentes presentan diferencias significativas entre sí (P<0.05)

<sup>1</sup>Tratamientos: Sin CX= Tratamiento control. Con CX= Tratamiento con adición de 6ppm de cantaxantina.

CME= Cuadrado medio del error

**Cuadro 12.** Lipoperoxidación en hígados de embriones de 18 días y pollos de 1 y 7 días posteclosión, provenientes de gallinas reproductoras Isa Brown

Tratamiento <sup>1</sup>	Edad		
	Embriones 18d	Pollos 1d PE	Pollos 7d PE
<b>Sin CX</b>	2.81 <sup>a</sup>	8.49 <sup>a</sup>	1.43 <sup>b</sup>
<b>Con CX</b>	2.17 <sup>b</sup>	2.83 <sup>b</sup>	2.20 <sup>a</sup>
<b>Significancia</b>	0.039*	0.000*	0.001*
<b>CME</b>	0.657	6.684	0.359

\*Valores con letras diferentes presentan diferencias significativas entre sí (P<0.05)

<sup>1</sup>Tratamientos: Sin CX= Tratamiento control. Con CX= Tratamiento con adición de 6ppm de cantaxantina.

CME= Cuadrado medio del error

**Cuadro 13.** Correlación entre la capacidad antioxidante total, lipoperoxidación y vitamina C en hígados de pollos, descendiente de gallinas reproductoras Isa Brown

		<b>Lipoperoxidación</b> nmol MDA/mg de proteína	<b>Vitamina C</b> µg VitC/ml de muestra
<b>Capacidad antioxidante total</b> nmol Eqtrolox/mg de proteína.	<b>Coef. Pearson</b>	0.634	0.148
	<b>P</b>	0.000*	0.191

**Cuadro 14.** Total de ácido ascórbico en hígados de embriones de 18 días y pollos de 1 y 7 días posteclosión, provenientes de gallinas reproductoras Isa Brown

Tratamiento <sup>1</sup>	Edad		
	Embriones 18d	Pollos 1d PE	Pollos 7d PE
<b>Sin CX</b>	3.4 <sup>a</sup>	4.4	3.9 <sup>b</sup>
<b>Con CX</b>	2.7 <sup>b</sup>	3.9	5.8 <sup>a</sup>
<b>Significancia</b>	0.0426*	0.318	0.0007*
<b>CME</b>	0.8642	1.14	1.864

\*Valores con letras diferentes presentan diferencias significativas entre sí (P<0.05)

<sup>1</sup>Tratamientos: Sin CX= Tratamiento control. Con CX= Tratamiento con adición de 6ppm de cantaxantina.

CME= Cuadrado medio del error