



# Universidad Nacional Autónoma de México

---

---

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

MAESTRÍA EN CIENCIAS DE LA PRODUCCIÓN Y LA SALUD  
ANIMAL

Comparación de la biodisponibilidad de un complejo orgánico de zinc  
(Zn (HMTBa)<sub>2</sub>) y un complejo inorgánico (ZnSO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O), respuesta a  
parámetros productivos, inmunológica y resistencia de tejidos en pollos de  
engorda alimentados con una dieta a base de maíz-soya

T E S I S  
PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
MAESTRO EN CIENCIAS  
P R E S E N T A  
FROYLÁN ABRAHAM RODRÍGUEZ SORIANO

COMITÉ TUTORAL: CARLOS LÓPEZ COELLO  
ERNESTO AVILA GONZÁLEZ  
SERGIO GÓMEZ ROSALES



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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

## **DEDICATORIAS**

**A mis padres Roberto y Patricia y a mi hermano Beto por el apoyo que he recibido durante mi desarrollo profesional, esta tesis es gracias a ellos.**

**A Silvia por todo el cariño.**

## **AGRADECIMIENTOS**

**A la Universidad Nacional Autónoma de México, gracias por todo.**

**A mis tutores Carlos López Coello, Ernesto Ávila González y Sergio Gómez Rosales. Gracias por la tutoría, las aportaciones al trabajo, los consejos y por toda su confianza, los mejores maestros que he tenido.**

**A Daniel Camacho Fernández, gracias por la oportunidad de poder trabajar contigo y aprender de tu incansable trabajo y dedicación.**

**Al los doctores José Antonio Quintana y Juan Carlos del Rio y las doctoras Irma Tejada Castañeda y Pilar Castañeda. Gracias por formar parte del jurado, por las aportaciones y observaciones al trabajo.**

**A todos mis maestros y compañeros de maestría, gracias por permitirme aprender de ustedes.**

**A todas las personas del Departamento de Producción Avícola, gracias por las enseñanzas durante mi estancia ahí y su apoyo durante la etapa experimental y el análisis de muestras.**

**A todas las personas del Centro de Enseñanza Investigación y Extensión en Producción Avícola. Gracias por todo el apoyo en la formulación, elaboración del alimento y la atención que me brindaron.**

**Al Departamento de Nutrición Animal de la Facultad de Medicina Veterinaria, gracias por brindarme el apoyo para el análisis de muestras.**

**Al posgrado de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, gracias por la atención que me brindaron.**

**Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por el apoyo económico.**

**A todas las personas que formaron parte del trabajo, este trabajo fue posible gracias a la participación de cada uno de ustedes.**

## RESUMEN

**Comparación de la biodisponibilidad de un complejo orgánico de zinc ( $Zn(HMTBa)_2$ ) y un complejo inorgánico ( $ZnSO_4 \cdot H_2O$ ), respuesta a parámetros productivos, inmunológica, y resistencia de tejidos en pollos de engorda alimentados con una dieta a base de maíz-soya.**

Se ha informado que minerales quelados con proteínas o aminoácidos, tienen mayor biodisponibilidad que fuentes convencionales e inducen mayor rapidez en el crecimiento y resistencia a enfermedades. El objetivo fue evaluar la biodisponibilidad, respuesta productiva e inmune, resistencia de tejidos y emplume al utilizar  $Zn(HMTBa)_2$  en comparación a  $ZnSO_4 \cdot H_2O$  en una dieta con base en maíz-soya (MS) en pollos de engorda; y al adicionar  $Zn(HMTBa)_2$  o una combinación de Zn,Cu,Mn( $HMTBa$ )<sub>2</sub> a una dieta MS adicionada con minerales inorgánicos. En el primer experimento fueron utilizados 216 pollos de engorda machos Ross X Ross 308 del día 1 al 21 de edad bajo una fase de alimentación, estos fueron distribuidos en 9 tratamientos con 4 repeticiones cada uno. Los tratamientos consistieron en: 1, dieta basal MS; tratamientos 2, 3, 4 y 5, dieta MS suplementada con  $ZnSO_4 \cdot H_2O$  y tratamientos 6, 7, 8 y 9 dieta MS suplementada con  $Zn(HMTBa)_2$ . Los aportes de Zn fueron de 25, 50, 75 y 100 mg/kg de Zn por cada fuente. En el segundo experimento se utilizaron 6000 pollos de engorda Ross X Ross 308 machos y hembras del día 1 al 49 edad, fueron distribuidos en cuatro tratamientos con 10 repeticiones de 150 aves y alimentados bajo 3 fases. Los tratamientos consistieron en: 1, dieta basal MS formulada para contener 120, 100 y 80 mg/kg de zinc por fase y 50,15 mg/kg de Mn y Cu respectivamente en los tres periodos; tratamientos 2 y 3, dieta basal adicionada para un aporte de 40 y 80 mg/kg de Zn como  $Zn(HMTBa)_2$ ; y tratamiento 4, dieta basal adicionada para un aporte de 40, 20, 40 mg/kg de Zn, Cu y Mn respectivamente. El Zn adicionado como  $Zn(HMTBa)_2$  no demostró tener una mayor biodisponibilidad en comparación de  $ZnSO_4 \cdot H_2O$  en base a la cantidad de Zn en tibia; no se detectaron efectos de fuente, nivel o interacción ( $P > 0.05$ ). En el experimento 1 la respuesta inmune celular al día 14 fue mayor con la adición de  $Zn(HMTBa)_2$  ( $P < 0.05$ ) y en el día 20 se

observó una tendencia a una mayor respuesta ( $P=0.059$ ). La concentración de Zn en heces incrementó de manera lineal ( $P<0.05$ ) con el nivel de adición de Zn, detectándose diferencias entre las fuentes en los niveles de inclusión de 25 y 50 mg/kg ( $P<0.05$ ), con mayores niveles en el Zn adicionado como  $Zn(HMTBa)_2$ , el peso corporal no se vio afectado por la fuente o nivel de Zn ( $P>0.05$ ). En el experimento 2, al día 48 de edad el tratamiento 4 tuvo menor incidencia de lesiones en cojinete plantar ( $P<0.05$ ), mayor número de aves sin defectos en piel ( $P<0.05$ ) y el título de anticuerpos fue numéricamente mayor, el peso corporal no mostró diferencias entre los tratamientos ( $P>0.05$ ). La adición de  $Zn(HMTBa)_2$  en las dietas tuvo un comportamiento más favorable en la respuesta inmune en comparación con a la de sulfato, mientras que la adición de la combinación de Zn, Cu, Mn ( $HMTBa$ )<sub>2</sub> indujo una mejor integridad de la piel en pollos de engorda al utilizar una dieta con base en MS con minerales orgánicos.

**Palabras clave:** pollo de engorda, zinc, sulfato, HMTBa, biodisponibilidad, resistencia de tejidos.

## ABSTRACT

**Comparison of the bioavailability of a organic complex of zinc ( $\text{Zn}(\text{HMTBa})_2$ ) and an inorganic complex ( $\text{ZnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ), productive and immune response, and tissues strength of broilers using a basal corn-soy diet.**

It has been reported that chelated minerals with proteins or amino acids, have a greater bioavailability than common mineral sources and promote a faster growth and diseases resistance. The aim of this work was evaluate the bioavailability, productive and immune response, tissue strength and feathering using  $\text{Zn}(\text{HMTBa})_2$  in comparison with  $\text{ZnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$  in a basal corn-soybean meal diet (CS) in broilers; and with the addition of  $\text{Zn}(\text{HMTBa})_2$  or with a blend of Zn,Cu,Mn( $\text{HMTBa})_2$  in a corn-soybean meal diet supplemented with inorganic minerals. In the first trial 216 Ross X Ross 308 broilers were maintained in one feeding phase from day 1 to 21 days of age, these were allotted in 9 treatments with 4 replicates each one. The treatments were: 1, basal CS diet; treatments 2, 3, 4 and 5, CS diet supplemented with  $\text{ZnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$  and the treatments 6, 7, 8 and 9 supplemented with  $\text{Zn}(\text{HMTBa})_2$ . The contributions of Zn were 25, 50, 75 and 100 mg/kg from each source. In the second trial 6000 broilers Ross X Ross 308 males and females were allotted in four treatments with 10 replicates of 150 birds, the birds were kept from 1 day of age until 49 under 3 feeding phases. The treatments consisted in: 1, CS basal diet formulated to contain 120, 100 and 80 mg/kg of Zn in each phase and 50, 15 mg/kg of Mn and Cu in the three periods; treatments 2 and 3, basal diet with the addition of 40 and 80 mg/kg of Zn as  $\text{Zn}(\text{HMTBa})_2$ ; and treatment 4, basal diet with the addition of 40, 20 and 40 mg/kg of Zn, Cu and Mn respectively. The addition of Zn as  $\text{Zn}(\text{HMTBa})_2$  did not show better bioavailability than  $\text{ZnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$  on the basis of tibia Zn; there were no effects of source, level or interaction ( $P > 0.05$ ). In the first trial the cellular immune response was better at 14 day with the addition of  $\text{Zn}(\text{HMTBa})_2$  ( $P < 0.05$ ) and in the 20<sup>th</sup> day there was a tendency for a better response ( $P = 0.059$ ). The level of zinc in feces increased linearly with the level of addition of Zn ( $P < 0.05$ ), and in addition levels of 25 and 50 mg/kg the sources showed differences ( $P < 0.05$ ), being greater with  $\text{Zn}(\text{HMTBa})_2$ , the bodyweight was not affected by the source or the level of zinc

( $P>0.05$ ). In the trial 2, at the 48<sup>th</sup> day of age the treatment 4 showed a lower incidence of lesions in foot pad ( $P<0.05$ ), greater number of birds without skin defects ( $P<0.05$ ) and the antibodies were numerically greater, the body weight did not show differences between treatments ( $P>0.05$ ). The addition of  $Zn(HMTBa)_2$  in the diets showed a better immune response than the zinc sulphate, whereas the addition of the Zn, Cu, Mn ( $HMTBa$ )<sub>2</sub> blend induced a better integrity of the skin in broilers when using a corn-soybean meal diet added with inorganic minerals.

**Key words:** broiler, zinc, sulphate, HMTBa, bioavailability, tissue strength

## CONTENIDO

<b>Dedicatorias</b> _____	<b>i</b>
<b>Agradecimientos</b> _____	<b>ii</b>
<b>Resumen</b> _____	<b>iv</b>
<b>Abstract</b> _____	<b>vi</b>
<b>Contenido</b> _____	<b>viii</b>
<b>Lista de cuadros</b> _____	<b>x</b>
<b>Lista de figuras</b> _____	<b>xii</b>
<b>1. Introducción</b> _____	<b>1</b>
<b>2. Revisión de literatura</b> _____	<b>4</b>
<b>2.1 Macrominerales y microminerales</b> _____	<b>4</b>
<b>2.2 Funciones de los minerales</b> _____	<b>4</b>
<b>2.3 Funciones del zinc</b> _____	<b>5</b>
<b>2.4 Absorción del zinc</b> _____	<b>8</b>
<b>2.4.1 Transportadores</b> _____	<b>8</b>
<b>2.4.2 Regulación del transporte</b> _____	<b>10</b>
<b>2.4.3 Excreción del zinc</b> _____	<b>11</b>
<b>2.5 Biodisponibilidad del zinc</b> _____	<b>12</b>
<b>2.6 Funciones del cobre</b> _____	<b>13</b>
<b>2.7 Funciones del manganeso</b> _____	<b>14</b>
<b>3. Justificación</b> _____	<b>16</b>
<b>4. Objetivos generales</b> _____	<b>16</b>
<b>5. Experimento 1</b> _____	<b>17</b>
<b>5.1 Hipótesis</b> _____	<b>17</b>
<b>5.2 Objetivo</b> _____	<b>17</b>
<b>5.3 Materiales y métodos</b> _____	<b>17</b>
<b>5.4 Resultados</b> _____	<b>21</b>
<b>6. Experimento 2</b> _____	<b>24</b>
<b>6.1 Hipótesis</b> _____	<b>24</b>
<b>6.2 Objetivo</b> _____	<b>24</b>

<b>6.3 Materiales y métodos</b>	<b>24</b>
<b>6.4 Resultados</b>	<b>28</b>
<b>7. Discusión</b>	<b>30</b>
<b>8. Conclusiones</b>	<b>43</b>
<b>9. Referencias bibliográficas</b>	<b>44</b>

## LISTA DE CUADROS

Cuadro 1. Metaloenzimas importantes en los animales _____	54
Cuadro 2. Ejemplos de metaloenzimas que contienen zinc y sus funciones _____	55
Cuadro 3. Niveles de inclusión de Zn añadidos a la dieta basal del Experimento 1 _____	56
Cuadro 4. Composición de la dieta basal para pollos de 1 a 21 días de edad en el Experimento 1 _____	57
Cuadro 5. Peso corporal, consumo de alimento y conversión alimenticia en la primera semana de edad. Experimento 1 _____	58
Cuadro 6. Peso corporal, consumo de alimento y conversión alimenticia a la segunda semana de edad. Experimento 1 _____	58
Cuadro 7. Peso corporal, consumo de alimento y conversión alimenticia en la tercera semana de edad. Experimento 1 _____	59
Cuadro 8. Mortalidad en pollitos al día 21 de edad. Experimento _____	59
Cuadro 9. Porcentaje de cenizas en hueso al día 21 de edad. Experimento 1 _____	60
Cuadro 10. mg/kg de Zn en hueso al día 21 de edad. Experimento 1 _____	60
Cuadro 11. Porcentaje de cenizas en heces en el día 20 de edad. Experimento 1 _____	61
Cuadro 12. Concentración de zinc en heces en el día 20 de edad. Experimento 1 _____	61
Cuadro 13. Respuesta a la prueba de hipersensibilidad cutánea basófila retardada al día 14 de edad. Experimento 1 _____	62
Cuadro 14. Respuesta a la prueba de hipersensibilidad cutánea basófila retardada al día 20 de edad. Experimento 1 _____	62
Cuadro 15. Media geométrica del título de anticuerpos contra ENC de los pollos a los 21 días de edad. Experimento 1 _____	63

Cuadro 16. Incidencia de lesiones en cojinete plantar en número de pollos por tratamiento al día 21 de edad. Experimento 1_____	63
Cuadro 17. Longitud de la tercera pluma primaria del ala al día 21 de edad. Experimento 1_____	64
Cuadro 18. Resistencia de tibia, intestino y piel. Experimento 1_____	65
Cuadro 19. Niveles de minerales esperados y encontrados en las dietas del Experimento 2_____	66
Cuadro 20. Análisis químico proximal realizado a las dietas del Experimento 2_____	66
Cuadro 21. Ejemplo de forma de registro elaborada por el personal calificado de rastro local para la prueba de integridad en piel_____	67
Cuadro 22. Parámetros productivos en las 7 semanas de producción en el Experimento 2_____	68
Cuadro 23. Peso y resistencia de intestino, piel y tibia a los días 21 y 48 de edad. Experimento 2_____	69
Cuadro 24. Lesiones en cojinete plantar a los días 21 y 48 de edad. Experimento 2_____	69
Cuadro 25. Porcentaje de cenizas y concentración de Zn en hueso encontrados en los días 21 y 48 de edad. Experimento 2_____	70
Cuadro 26. Evaluación en campo por el departamento de control de calidad_____	70
Cuadro 27. Resultados obtenidos por la prueba de inhibición de hemoaglutinación para ENC a los 18 días pos vacunación. Experimento 2_____	71
Cuadro 28. Concentración de Zn encontrado en dietas basales maíz-soya sin suplementación para pollitos_____	71

## LISTA DE FIGURAS

- Fig. 1. Cambios en la expresión de transportadores de zinc en ratones como respuesta al contenido de Zn en la dieta\_\_\_\_\_ 72
- Fig. 2. Dinamómetro digital (IMADA MV 11) utilizado para determinar la resistencia de tejidos\_\_\_\_\_ 73
- Fig. 3. Medias marginales de la concentración de Zn en heces en cada nivel de inclusión. Experimento 1\_\_\_\_\_ 74
- Fig. 4. mg/kg de Zn en heces para cada nivel de inclusión y fuente. Experimento 1\_\_\_\_\_ 75
- Fig.5. Medias marginales de la respuesta a la prueba de hipersensibilidad cutánea basófila retardada de cada fuente de zinc al día 14 de edad. Experimento 1\_\_\_\_\_ 76
- Fig. 6. Respuesta a la prueba de hipersensibilidad cutánea basófila retardada en cada tratamiento al día 14 de edad. Experimento 1\_\_\_\_\_ 77
- Fig. 7. Respuesta a la prueba de hipersensibilidad cutánea basófila retardada en cada tratamiento al día 20 de edad. Experimento 1\_\_\_\_\_ 78
- Fig. 8. Media geométrica del título de anticuerpos contra ENC en cada tratamiento a los 11 días post vacunación. Experimento 1\_\_\_\_\_ 79
- Fig. 9. Resistencia de piel observada al día 48 de edad. Experimento 2\_\_\_\_\_ 80
- Fig. 10. Número de pollos que no presentaron lesiones en cojinete plantar a los 48 días de edad. Experimento 2\_\_\_\_\_ 81
- Fig. 11. Resultados obtenidos en la prueba de inhibición de la hemoaglutinación para la ENC a los 18 días post vacunación. Experimento 2\_\_\_\_\_ 82

## 1. INTRODUCCIÓN

El zinc (Zn) es necesario en las aves para el crecimiento normal y el mantenimiento, incluyendo entre otras funciones el desarrollo óseo, el emplume y la regulación del apetito (Batal *et al.*, 2001).

La Academia de Ciencias de los Estados Unidos de Norteamérica (NRC por sus siglas en inglés, 1994) estima los requerimientos de Zn para los pollos de engorda en 40 mg/kg en la dieta para todo el periodo de producción, aunque es una práctica común que las dietas contengan una cantidad mayor. En el caso de pollos de engorda, los requerimientos para edades de más de 21 días son estimaciones basadas en aves de diferentes edades u otras especies (NRC, 1994).

Mohanna y Nys (1999a) concluyeron que no hay una mejora en los parámetros productivos con un aporte total de Zn mayor de 45 mg/kg en pollos a los 21 días de edad, mientras que Burrell *et al.* (2004) en otro estudio señalan una mejoría en el rendimiento de los pollos cuando éstos consumieron dietas con 110 mg Zn/kg en el día 45 de edad. Algunos otros estudios indican que la suplementación a las dietas para pollos de engorda por arriba de los 40 mg/kg recomendados por el NRC (1994) aumenta la producción de anticuerpos (Kidd *et al.*, 1992), mientras que otros han indicado que no hay efectos (Stahl *et al.*, 1989; Pimentel *et al.*, 1991a).

El Zn comúnmente es suplementado a las dietas para aves debido a que estas pueden ser marginalmente deficientes, y a que muestran una gran heterogeneidad en el contenido de Zn. Por lo común se suplementa como sales inorgánicas (ZnO o  $\text{ZnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ), las cuales pueden tener una baja biodisponibilidad<sup>1</sup>, principalmente por efectos antagónicos (Cu, ácido fítico, Ca) al formar quelatos<sup>2</sup> muy estables y altamente insolubles que afectan su absorción (Underwood y Suttle, 2001) y limitan su biodisponibilidad (O'Dell y Savage, 1960; Oberleas *et al.*, 1962, 1966;

---

<sup>1</sup> Biodisponibilidad puede definirse como el grado al cual un nutriente ingerido es absorbido en una forma que pueda ser utilizado en el metabolismo por el animal (Ammerman *et al.*, 1995)

<sup>2</sup> Quelación se refiere a la formación de un tipo de complejo específico entre un metal y un ligante. Un ligante se define como una molécula que contiene un átomo que tiene un par de electrones solos. Los complejos de iones metálicos se unen al ligante a través de donadores de átomos como el oxígeno, nitrógeno y azufre. La quelación ocurre cuando dichos ligantes se unen al ión metálico por vía de dos o más donadores de átomos para formar un complejo que contiene uno o más anillos heterocíclicos que contienen el átomo del metal (Hynes y Kelly, 1995)

Ravindran 1995). El factor común en estos antagonismos es la disociación del catión metálico y de su correspondiente anión en el bajo pH del sistema gastrointestinal superior, posteriormente, cuando el mineral se encuentra con un pH más alto en el intestino, puede ligarse a minerales, nutrientes y componentes no nutritivos del alimento, haciéndolos insolubles y a su vez excretados; por lo tanto no aprovechables por el animal.

El uso de fuentes alternativas de minerales particularmente aquellas en donde los minerales se encuentran quelados con proteínas o aminoácidos ha incrementado debido a que existe información en el sentido de tener una mayor biodisponibilidad que las fuentes inorgánicas convencionales (Ashmead y Zuninho, 1993). Los enlaces ligantes orgánicos pueden proveer más estabilidad al complejo, lo cual puede resultar en una resistencia superior a la disociación en el buche, en el proventrículo y en la molleja a comparación de las fuentes inorgánicas, permitiendo que el complejo intacto sea entregado al epitelio del intestino delgado para la absorción del mineral (Wedekind *et al.*, 1992; Leeson y Summers, 2001).

En particular el zinc, hierro, cobre y selenio, son ampliamente utilizados como metales quelados en la alimentación animal, ya que parece que inducen un mayor crecimiento y resistencia enfermedades en comparación con sales inorgánicas (Kratzer y Vohra 1986). Se ha sugerido que estos efectos están correlacionados con una mejora en la biodisponibilidad (Wedekind, *et al.*, 1992). Spears (1989) y Kidd *et al.*, (1996, 2000) proponen que el zinc dietario proveniente de fuentes orgánicas puede ser absorbido intacto y por lo tanto funcionar de una manera diferente a las fuentes inorgánicas después de su absorción.

Aunque en 10 últimos años ha incrementado el uso de los minerales orgánicos, hay estudios recientes que muestran resultados contradictorios con respecto a la

mejor integridad estructural y biodisponibilidad de los minerales quelados con aminoácidos y como proteinatos <sup>3</sup> (Pastore *et al.*, 1999; Cao *et al.*, 2000).

A través del uso del uso de una ligadura quelante capaz de dar al metal quelado una adecuada estabilidad en el bajo pH de la primera porción del tracto digestivo, éste podría tener una mayor biodisponibilidad. Estudios preliminares indican que el ácido 2-hidroxi-4-(metiltio) butanoico (HMTBa; llamado hidroxianálogo de metionina), un  $\alpha$ -hidroxiácido usado ampliamente como una fuente de metionina en la alimentación animal, al ser quelado con minerales tiene estas características deseadas. La fórmula del complejo doblemente quelado es  $[\{CH_3SCH_2CH_2CH(OH)COO\}_2M] \cdot nH_2O$  ( $M=Ca^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$ ,  $Mn^{2+}$ ,  $Fe^{2+}$ ,  $Co^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$  o  $Zn^{2+}$ ). Investigaciones con complejos  $Zn(HMTBa)_2$  en presencia de glicina como un ligando de competencia, han mostrado que a un pH < 5 los únicos quelados presentes en la solución son aquellos con HTMBa (Predieri *et al.*, 2003).

Por otro lado, la práctica común de añadir minerales traza en las dietas para aves y así prevenir problemas asociados a su deficiencia, puede incrementar el riesgo de toxicidad del suelo. La contaminación del suelo con metales como el zinc y cobre se ha asociado a la reducción en la cosecha producida de frijoles de arbusto, maíz (Giordano *et al.*, 1975), y sorgo (Ohki, 1984). El riesgo de fitotoxicidad puede reducirse ajustando la suplementación de zinc en las dietas con respecto a los requerimientos (Mohanna y Nys, 1999a) y a través del uso de formas que tengan una mayor biodisponibilidad.

---

<sup>3</sup> Definiciones de AAFCO (1998) para los complejos minerales orgánicos:

Metal quelado con aminoácido – es el producto resultante de la reacción de un ión metálico de una sal metálica soluble con aminoácidos con una relación molecular de una molécula del metal a una a tres (preferiblemente dos) moléculas de aminoácidos para formar enlaces covalentes. El promedio de peso de los aminoácidos hidrolizados debe ser aproximadamente 150 y el peso molecular resultante del quelado no debe exceder 800.

Proteinato metálico – es el producto resultante de la quelación de una sal soluble con aminoácidos y/o proteínas parcialmente hidrolizadas.

## **2. REVISIÓN DE LITERATURA**

### **2.1 Macrominerales y microminerales**

Los cuatro elementos más abundantes en los organismos vivos, en términos de porcentaje de número de átomos, son el hidrógeno, oxígeno, nitrógeno, y carbono, los cuales representan más del 99% de la masa de la mayoría de las células. Los elementos traza (Mg, V, Cr, Mo, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Se y I) representan una mínima fracción del peso corporal, sin embargo son esenciales (Cuadro1) para la vida ya que se necesitan para la función de algunas proteínas, incluyendo las enzimas (Nelson y Cox, 2004).

En 1981, 22 elementos minerales eran considerados esenciales para las formas de vida animal (Underwood, 1981). Éstos comprenden siete minerales principales o macrominerales: calcio, fósforo, potasio, sodio, cloro, magnesio y azufre; y 15 microminerales o elementos traza: hierro, yodo, zinc, cobre, manganeso, cobalto, molibdeno, selenio, cromo, estaño, vanadio, flúor, silicio, níquel y arsénico. La esencialidad de los últimos nueve (elementos traza modernos) se basa casi exclusivamente en los efectos sobre el crecimiento de animales de laboratorio mantenidos en condiciones especiales (Underwood y Suttle, 2001).

### **2.2 Funciones de los minerales**

Los minerales tienen funciones estructurales, fisiológicas, catalíticas y reguladoras. Pueden formar componentes estructurales de órganos y tejidos corporales, como sucede con el calcio y fósforo en huesos o como el fósforo y el azufre en las proteínas musculares. Minerales como el zinc y el fósforo forman parte de moléculas y membranas, contribuyendo a su estabilidad estructural.

También se presentan como electrolitos en tejidos y fluidos corporales, interviniendo en el mantenimiento de la presión osmótica, equilibrio ácido-base, permeabilidad de membranas e irritabilidad tisular; el sodio, potasio, cloro, calcio y magnesio en sangre, líquido cefalorraquídeo y jugos gástricos son ejemplos de minerales con

estas funciones (Underwood y Suttle, 2001). Actúan como catalizadores o con una función estructural en sistemas enzimáticos dentro de las células, así mismo participan como constituyentes de cientos de proteínas involucradas en metabolismo intermediario, vías de secreción hormonal y sistemas de defensa inmune (Dieck *et al.*, 2003). Se ha descubierto que los minerales intervienen en la regulación de la replicación y diferenciación celular; el calcio influye en las señales de transducción y el zinc en la transcripción; otras funciones reguladoras importantes involucran minerales como el yodo que funciona como constituyente de la tiroxina (Underwood y Suttle, 2001).

Los elementos minerales se encuentran en las células y tejidos de los organismos animales en diversas combinaciones químicas y funcionales en cantidades características dependiendo del elemento y tejido, estas concentraciones minerales deben mantenerse dentro de límites estrechos para conservar la integridad funcional y estructural de los tejidos, y mantener inalterado el crecimiento, la salud y la productividad de los animales (Underwood y Suttle, 2001).

Una ingestión continua de una dieta deficiente, excesiva o desequilibrada de algún mineral provoca cambios en la forma o concentración de éste en los tejidos y fluidos corporales, pudiéndose ver afectadas funciones fisiológicas, estructurales, catalíticas y/o reguladoras, con una variación en dependencia del tipo de mineral, el grado y duración del desequilibrio, de la especie, edad, sexo y estado fisiológico del animal (Chesters y Arthur, 1988).

### **2.3 Funciones del Zinc**

El zinc es esencial para todos los seres vivos, se encuentra en metaloenzimas (Cuadro 2), en donde cumple una función estructural y actúa como colaborador de la catálisis de reacciones biológicas (O'Dell, 1992), este elemento es esencial para al menos un tipo de enzima de las seis clases de enzimas existentes, las cuales son: oxidoreductasas, transferasas, hidrolasas, liasas, isomerasas y ligasas (Vallee

y Auld, 1990a). Es requerido como cofactor para la función en más de 300 enzimas diferentes (Vallee y Auld, 1990b), siendo el constituyente mineral más común en las metaloenzimas (Underwood y Suttle, 2001). Se estima que el número de genes que codifican para proteínas con dominios de unión para zinc es mayor al 3% en el genoma humano, pero posiblemente sea tanto como 10% (Blasie y Berg, 2002; Andreini *et al.*, 2006).

La anhidrasa carbónica participa en el transporte de dióxido de carbono de los tejidos a los pulmones (Österberg, 1983). Gran parte del CO<sub>2</sub> se transporta como HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>, el cual se forma en los eritrocitos por la acción de la anhidrasa carbónica sobre el CO<sub>2</sub>. La remoción de zinc en la anhidrasa carbónica resulta en una apoenzima (Valle y Galdes, 1984).

La superóxido dismutasa juega un papel importante en la protección de las células y tejidos del daño producido por radicales superóxido (O<sub>2</sub><sup>-</sup>) (McCord, *et al.*, 1971) y debido a que los fagocitos mononucleares producen el ión superóxido a partir del oxígeno molecular durante la oxidación, la superóxido dismutasa es vital para la integridad de los macrófagos y heterófilos (Cook-Mills y Fraker, 1993). La enzima alcohol deshidrogenasa cataliza la oxidación de etanol, vitamina A, alcohol y esteroides usando NADH<sup>+</sup> como cofactor, y también cataliza la reducción de aldehídos y cetonas en la presencia de NADH<sup>+</sup> (VonWartburg, *et al.*, 1964). Las DNA y RNA polimerasas son nucleotidiltransferasas que catalizan la replicación y transcripción del genoma celular. El zinc puede influenciar la expresión genética a través de alterar la estructura del DNA y la cromatina, así mismo es importante para mantener la integridad de los ácidos nucleicos (Castro y Sevall, 1993). La DNA y RNA polimerasas se ven disminuidas en las células cuando se añaden agentes quelantes de zinc (Prasad, 1982); estas observaciones indican que este mineral en cantidades inadecuadas puede alterar la expresión genética o resultar en un daño a las funciones celulares por una disminución en la síntesis de DNA o RNA. Se ha descubierto que deficiencias de Zn influyen en la expresión de genes controladores de la síntesis de moléculas que no contienen este elemento (Chesters, 1992). La

carboxipeptidasa A cataliza la hidrólisis de aminoácidos aromáticos, tales como fenilalanina, tirosina o triptófano, o aminoácidos alifáticos ramificados (Hartsuck y Lipscomb, 1971) y la carboxipeptidasa B cataliza la hidrólisis de los aminoácidos básicos: lisina, arginina y ornitina de la terminal carboxil de las uniones peptídicas de los polipéptidos (Folk, 1971); ambas son metaloenzimas que contienen zinc. La colagenasa es una metaloenzima que contiene zinc (Seltzer *et al.*, 1977), y desempeña un papel importante durante la resorción y remodelación del hueso (Lenaers-Claeys y Vaes, 1979;). La deficiencia de Zn se caracteriza por una alteración en el metabolismo del colágeno del hueso, en donde se muestra una reducción significativa en la síntesis de colagenasa, esto muestra que una deficiencia de este elemento disminuye el recambio de colágeno en hueso (Starcher *et al.*, 1980). Debido a que las tasas de recambio de colágeno se reducen por la deficiencia de zinc, puede ocurrir una reducción en la fortaleza de los tejidos, lo cual es importante para la salud del animal y el procesamiento de la canal (Pardo y Selman 2005).

El zinc desempeña un papel importante para el desarrollo normal, el mantenimiento y la función del sistema inmune (Kidd *et al.*, 1996), ya que forma parte de enzimas necesarias para la integridad de células involucradas en la respuesta inmune (Dardene y Bach, 1993). Su deficiencia ha mostrado una disminución de la inmunidad celular (Wirth *et al.*, 1989), respuesta celular retardada, número y funciones de linfocitos (Kidd *et al.*, 1996) y producción de interleucina (Dowd *et al.*, 1986), así como un menor desarrollo del timo (Dardenne y Bach, 1993) y bazo (Beach *et al.*, 1982).

La atrofia tímica inducida por el zinc puede deberse a una disminución en las metaloenzimas necesarias para el desarrollo de los linfocitos o a una alterada función epitelial del timo (Dardenne y Bach 1993), aunque la hormona tímica timulina pudiera ser la responsable de la atrofia tímica, ya que su función es nula sin este elemento. La deficiencia dietaria, resulta en una significativa disminución en el

suero de timulina, en ratones y en humanos (Fernández *et al.* 1979, Dardenne *et al.*, 1985).

En las aves las deficiencias de Zn se caracterizan por una disminución en el crecimiento, pobre emplume, anormalidades en las patas (Nielsen *et al.*, 1966) y un acortamiento y engrosamiento de los huesos de las piernas (Young *et al.*, 1958).

## **2.4 Absorción del zinc**

La absorción intestinal de zinc es afectada por los niveles de este elemento en la dieta, la presencia de otros minerales en el lumen intestinal, agentes quelantes en la dieta, y la síntesis de moléculas acarreadoras de Zn en las células de la mucosa intestinal (Park *et al.*, 2004). Esta absorción responde rápidamente a los cambios de la cantidad de Zn en la dieta, la eficiencia de absorción incrementa a bajas ingestiones y disminuye cuando es excesivo en la dieta (Cousins, 1985).

### **2.4.1 Transportadores del zinc**

El zinc no puede cruzar las membranas biológicas por difusión simple ya que es un ión hidrofílico con una elevada carga; por lo tanto, existen mecanismos especializados para su absorción o eliminación, los cuales usan proteínas integrales de transporte en las membranas para transportarlo a través de la bicapa lipídica de la membrana plasmática (Tako *et al.*, 2005).

Se han implicado dos familias de proteínas en su transporte: las proteínas ZnT (SLC30A por sus siglas en inglés) y las proteínas Zip (proteínas Zrt- e Irt-like (SLC39A) por sus siglas en inglés). Las proteínas ZnT disminuyen el zinc intracelular a través de mediar su salida de las células o introducirlo a vesículas intracelulares, mientras que las proteínas Zip promueven su entrada del fluido extracelular o de las vesículas intracelulares al citoplasma (Liuzzi y Cousins, 2004).

La eliminación del zinc y la deposición en vesículas ocurre en contra del gradiente de concentración; por lo tanto es probable que las proteínas transportadoras ZnT funcionen como transportadores activos secundarios o tal vez a través de un mecanismo antiporte (Cousins *et al.*, 2006). La familia de proteínas ZnT en

mamíferos consiste de 10 miembros (ZnT1-10) (Cousins *et al.*, 2006) y la mayoría de estas se han encontrado en compartimentos intracelulares, usualmente asociadas a endosomas, aparato de Golgi o retículo endoplásmico. La ZnT1 parece ser el único transportador localizado en la membrana plasmática, lo cual está de acuerdo a su papel como regulador primario en la salida de zinc (Palmiter y Huang, 2004). La proteína ZnT2 tiene una localización vesicular en las células de los acinis pancreáticos, mientras que ZnT1 también está presente en la membrana plasmática y la ZnT5 se encuentra en las vesículas secretorias de las células  $\beta$  pancreáticas y en la membrana apical de los enterocitos (Liuzzi y Cousins, 2004).

La familia de proteínas Zip de mamíferos se subdivide en 4 subfamilias (ZipI, ZipII, gufA y LZT) y consiste de 14 miembros (Taylor, 2000), la actividad transportadora de Zn para Zip1-8 y 14 ha sido demostrada (Suzuki *et al.*, 2005). En la mayoría de las proteínas Zip está predicho que tienen ocho dominios transmembranales, siendo los dominios IV y V elevadamente conservados, por lo cual podrían formar poros a través de los cuales pasan metales (Rogers *et al* 2000; Gaither y Eide, 2001). Esto concuerda con observaciones que indican que éste transporte se lleva a cabo por medio de un proceso facilitado, dirigido por un gradiente de concentración. Yu *et al.* (2008) observaron en pollos de engorda, que el zinc absorbido en duodeno y yeyuno dependía de un proceso saturable mediado por acarreadores, mientras que en el íleon dependía de un proceso de difusión no saturable, siendo este último el mayor sitio de absorción de este elemento. Se ha demostrado que la mayoría de las proteínas Zip se localizan en la membrana plasmática, aunque la proteína Zip7 se ha localizado en el aparato de Golgi (Huang *et al.*, 2005). La localización de los transportadores Zip puede cambiar de acuerdo a la disponibilidad de zinc o a condiciones fisiológicas, así por ejemplo Zip5 tiene una localización basolateral en la membrana plasmática de los enterocitos durante el aporte adecuado de zinc, pero su regulación por medio de zinc no se ha definido (Wang *et al.*, 2004).

#### 2.4.2 Regulación del transporte de Zn

La respuesta de ZnT1 a la restricción o suplementación dietaria es variable entre los diferentes tejidos (McMahon y Cousins, 1998; Liuzzi *et al.*, 2001). La restricción dietaria de zinc en ratones incrementa la expresión del gen *Zip4* ocasionando un incremento de *Zip4* localizada en la membrana plasmática de los enterocitos (Dufner-Beattie *et al.*, 2003; Liuzzi *et al.*, 2004), y cuando se administra este elemento, la expresión de *Zip4* disminuye y también su localización en la membrana a condiciones basales (Liuzzi *et al.*, 2004). Se ha propuesto que *Zip5*, expresada en el intestino y los acinis de las células pancreáticas se internaliza diferenciadamente en respuesta a la ingestión dietaria de zinc y contribuye a la homeostasis de manera integral a través de producir menor transporte del elemento del plasma a las células en el intestino (Dufner-Beattie *et al.*, 2004) y riñón (Wang *et al.*, 2004).

La regulación del aumento en la expresión de *Zip4* en los enterocitos y la disminución de *ZnT1* y *ZnT2* en las células de los acinis pancreáticos de ratones cuando la ingestión de zinc es baja son los factores claves para balancear la absorción intestinal y la pérdida endógena vía secreciones pancreáticas (Fig. 1).

La homología entre los transportadores en mamíferos y no mamíferos sugiere que sus funciones se conservan (Cousins *et al.*, 2006). En aves se ha identificado y estudiado el transportador ZnT1 y la expresión de su gen, el cual ha mostrado una homología de 42% a *Homo sapiens* y *Rattus norvergicus* (Tako *et al.*, 2005).

La forma química del zinc transportado no se conoce y su paso a través de la superficie de la membrana vía un receptor en la superficie del borde de cepillo pudiera requerir la unión de los iones libres o una unión previa a componentes específicos. Un ligando de bajo peso molecular ( $10^5$  LMW-ZBL por sus siglas en ingles) como acarreador en el transporte de zinc en la dieta pudiera estimular la absorción, debido a que el ión libre forma un hidróxido de zinc insoluble en un pH

neutro y a que la tasa de transporte del elemento no es dependiente de las concentraciones intraluminales, por lo cual este ligando podría jugar un papel clave en regular el mecanismo de transporte intestinal para zinc. Dentro de los posibles acarreadores de zinc se encuentran el ácido etilendiaminotetra-acético, el citrato, el ácido picolinico, la histidina y la metalotioneina (Park *et al.*, 2004).

Una vez absorbido, el zinc se une a la albúmina, la cual es transferida con facilidad a los tejidos. La mayor captación de Zn es en hueso, aunque órganos como el hígado, páncreas, bazo e intestinos también lo acumulan. En éstos últimos tejidos, parte del elemento está unido a la metalotioneina y sirve como un pool de reserva. De cualquier manera éste pool no amortigua una deficiencia dietaria por largos periodos. Las reservas en hueso duran unos días más, pero la deficiencia pronto se desarrolla. De esta manera, de todos los minerales traza, los pools de almacenamiento de Zn son los más pequeños en relación a los requerimientos, y las deficiencias en la dieta no están bien amortiguadas (Harland *et al.*, 1975; Emmert and Baker, 1995).

### **2.4.3 Excreción del Zn**

La excreción de Zn ocurre predominantemente vía secreciones pancreáticas y por las heces, mientras que la eliminación en la orina es casi nula. De cualquier manera, la contribución a la homeostasis por medio de la pérdida endógena es muy limitada. Al estar regulada la absorción por su concentración en la dieta, con menores concentraciones en la dieta las pérdidas por heces disminuyen, mientras que al aumentar las concentraciones en la dieta la eliminación por las heces aumenta. La cantidad de zinc que pudiera ser reabsorbido de las secreciones muy probablemente se ve restringido por la presencia de fitatos en la dieta (Underwood y Suttle, 2001).

## 2.5 Biodisponibilidad del zinc

Los ingredientes utilizados en las dietas para aves, como maíz, sorgo y pasta de soya, pueden proveer cantidades considerables de minerales traza, las cuales varían dependiendo de la composición del suelo en que fueron cultivados (Underwood y Suttle, 2001), siendo rara vez tomado en cuenta su aporte de microminerales.

El Zn en los cereales tiene una absorción relativa baja y variable en cerdos y aves, siendo de alrededor de 60% en comparación con fuentes inorgánicas (Baker y Ammerman, 1995). Los concentrados de proteínas vegetales tiene un mayor valor relativo de zinc que los cereales (0.74-0.84 vs 0.58 o menos: Franz *et al.*, 1980).

La biodisponibilidad de los minerales en forma de sales inorgánicas ha mostrado tener una variación de entre 60-96% dependiendo del tipo de fuente utilizada (por ejemplo sulfatos u óxidos) (Henry *et al.*, 1989; Zanetti *et al.*, 1991). La biodisponibilidad relativa de las diferentes fuentes de minerales parece depender de su capacidad de permanecer quelado en el pH del tracto gastrointestinal superior. Existen reportes que indican que fuentes de minerales en donde los minerales se encuentran quelados con proteínas o aminoácidos tienen una mayor biodisponibilidad que las fuentes inorgánicas, debido a que estas podrían tener mayor estabilidad y resistencia a la disociación en el tracto gastrointestinal superior evitando las pérdidas minerales con los antagonistas como los fitatos, calcio y cobre (Underwood y Suttle, 2001). Cuando el zinc forma complejos con algunos ligandos pequeños, tales como EDTA, citrato, o aminoácidos (histidina, cisterna, metionina) es menos influido por los negativos efectos de otros minerales o ácido fítico (Baker y Ammerman, 1995).

Aunque para caracterizar las fuentes de zinc son necesarios valores absolutos de la biodisponibilidad, pocos trabajos han sido publicados debido a las dificultades en su medición. En primer lugar, el zinc se absorbe de acuerdo a sus necesidades (Weigand y Kirchgessner, 1978; Suttle *et al.*, 1982), por lo tanto, pruebas que usan exceso de este elemento subestiman el potencial de la fuente. En segundo lugar, los fitatos, la mayor fuente de fósforo de los ingredientes utilizados en la

alimentación para aves (Reddy *et al.*, 1982), forman complejos no absorbibles por el intestino con el zinc (Ravindran *et al.*, 1995), por esto, el tipo de ingredientes utilizados en la dieta influye con el contenido de fitatos de la dieta. En tercer lugar, la interacción de Zn con fitatos depende del nivel dietario de calcio en la dieta (Wedekind *et al.*, 1994a). En cuarto lugar la interacción con cobre, manganeso, hierro, calcio, selenio, cadmio, fósforo y azufre (Leeson y Summers, 2001). Por esto la disponibilidad debe ser considerada como una característica de la dieta completa más que de un componente específico.

El hueso ha sido señalado como el tejido más sensible en los pollos para ser usado como criterio en las pruebas biológicas para determinar la biodisponibilidad de zinc. (Sandoval *et al.*, 1997, 1998, 1999; Cao *et al.*, 2002).

## **2.6 Funciones del cobre**

El cobre (Cu) es esencial para la reproducción, desarrollo óseo, crecimiento, desarrollo del tejido conectivo y para la pigmentación de las plumas. Debido a que el Cu solo es sobrepasado por el Zn en el número de metaloenzimas que activa, es difícil determinar la razón por la cual surgen particulares anomalías en los animales con deficiencias de cobre (Underwood y Suttle, 2001).

La presencia de anemia en deficiencias por Cu parece estar mediada por un efecto en el transporte y movilización del hierro. La enzima ceruloplasmina (dependiente de Cu) facilita el transporte de hierro a través de la formación de transferrina Fe(III) (Underwood y Suttle, 2001).

El cobre protege a los tejidos del estrés oxidativo por dos vías, una involucra el deterioro del metabolismo del hierro y la otra por medio de la superóxido dismutasa que contiene Cu y Zn (CuZnSOD, Dameron y Harris, 1987). La ceruloplasmina puede contribuir a la defensa antioxidante por medio de la eliminación del hierro libre y radicales libres (Saenko *et al.*, 1994).

La dopamina- $\beta$ -monooxigenasa (enzima dependiente de cobre) ha demostrado tener una actividad disminuida en el corazón de ratones deficientes de cobre (Gross

y Prohaska, 1990) y el metabolismo de catecolaminas puede verse críticamente afectado en corazón y en cerebro durante las deficiencias de Cu.

La disminución de otra enzima dependiente de cobre, la monooxigenasa peptidilglicina- $\alpha$ -amidante (PAM), ha sido reportada en el cerebro de ratas recién nacidas provenientes de hembras completamente deficientes de cobre. Lo que es de particular interés, es la multiplicidad de moléculas biogénicas que son dependientes de PAM (entre las que se encuentran las hormonas reguladoras del apetito gastrina y colecistocinina) y la lenta recuperación de la actividad enzimática seguida de la reposición de Cu (Prohaska y Bailey, 1995).

La enzima lisil-oxidasa es una metaloenzima que se ve reducida en animales con deficiencia de Cu (Rucker *et al.*, 1998). El resultado es que la elastina y el colágeno de esos animales es incapaz de soportar el estrés mecánico típico del sistema cardiovascular o esquelético (O'Dell *et al.*, 1961) ya que esta enzima está involucrada en el entrecruzamiento del colágeno y la elastina (Underwood y Suttle, 2001).

El cobre parece ser esencial para el funcionamiento normal del sistema inmune. En animales con severas deficiencias de cobre, es posible afectar el número de células mediadoras de inmunidad, incrementando los mastocitos (células de inmunidad no específica) en músculo (Schuschke *et al.*, 1994) y con una disminución de subpoblaciones de células T (células de inmunidad específica) (Mulhern y Koller, 1988).

El gran incremento del metabolismo de las células del sistema inmune durante la infección y el desafío pueden hacerlas vulnerables a la depleción de la enzima generadora de energía citocromo c oxidasa o a la protección por la enzima CuZnSOD (Underwood y Suttle, 2001).

## **2.7 Funciones del manganeso**

El manganeso (Mn) es un elemento traza esencial debido a su papel catalítico y regulador en los sistemas enzimáticos, se presenta en pequeñas cantidades en la

mayoría de las células no siendo almacenado en el cuerpo en grandes cantidades (Underwood y Suttle, 2001).

El Mn es esencial en la síntesis de mucopolisacáridos que forman componentes estructurales del cartílago, esto es debido a que la enzima glicosiltransferasa (metaloenzima dependiente de Mn) está involucrada en su formación. El deterioro de la actividad de la glicosiltransferasa por una deficiencia de Mn en aves reduce la síntesis de estos mucopolisacáridos causando defectos en el esqueleto (Leach, 1988).

Los pollos deficientes de Mn tienen menos proteoglicanos en el cartílago de crecimiento de la tibia que los pollos con aporte suficiente de manganeso, y la composición de los monómeros de carbohidratos se ve modificada (Liu *et al.*, 1994). El manganeso también se ve involucrado en la formación de protrombina, una glicoproteína que se ve activada por medio de glicosiltransferasas (Underwood y Suttle, 2001).

La piruvato carboxilasa probablemente sostiene el metabolismo de los lípidos y la glucosa debido a que la acumulación de grasa vista en la deficiencia de manganeso también es una característica de la deficiencia de biotina en animales no rumiantes, la biotina activa la misma enzima (Underwood y Suttle, 2001).

El Mn también desempeña un papel importante en la protección a la mitocondria del daño oxidativo asociado a los radicales libres de  $O_2^-$ , formados durante la captura de energía (Leach y Harris, 1997). La superóxido dismutasa (SOD) protege a las células del daño ocasionado por los radicales libres.

### **3. JUSTIFICACIÓN**

Durante los últimos 30 años, ha habido poca investigación con respecto al uso de los minerales traza en la producción avícola. Los requerimientos de minerales sugeridos por el NRC (1994) en base a la ganancia de peso se basan en investigaciones con más de 30 años de antigüedad, además en la mayoría de estas investigaciones se utilizaron dietas purificadas o semipurificadas, debido a esto, existe el cuestionamiento sobre su validez para las líneas genéticas modernas y para las prácticas de alimentación comercial. Por otro lado, ha habido un incremento del uso de los minerales orgánicos debido a que se ha informado que estos tienen una mayor biodisponibilidad que las fuentes inorgánicas convencionales e inducen una mejor ganancia de peso y resistencia a enfermedades. Asimismo una mayor biodisponibilidad de estas fuentes aunado a un ajuste de los niveles de inclusión de minerales en la dieta podría ayudar a reducir riesgos de toxicidad en los suelos. Tomando en cuenta lo anterior es necesario realizar estudios para determinar cuáles son los niveles de inclusión de minerales traza adecuados en las dietas para aves al utilizar ingredientes convencionales, y determinar si las fuentes orgánicas tienen una mayor biodisponibilidad o inducen algún otro tipo de respuesta productiva en comparación con fuentes inorgánicas comúnmente utilizadas.

### **4. OBJETIVOS GENERALES**

Evaluar la biodisponibilidad en base a la respuesta productiva, inmune, resistencia de tejidos y emplume al utilizar  $Zn(HMTBa)_2$  en comparación con  $ZnSO_4 \cdot H_2O$  en una dieta con base en maíz-soya en pollos de engorda; y al adicionar el  $Zn(HMTBa)_2$  o una combinación de  $Zn, Cu, Mn(HMTBa)_2$  a una dieta basal maíz-soya que contenía una premezcla con minerales inorgánicos.

## **5. EXPERIMENTO 1**

### **5.1 Hipótesis**

El zinc adicionado en forma de  $Zn(HMTBa)_2$ , tiene una mayor biodisponibilidad en comparación al sulfato de zinc ( $ZnSO_4 \cdot H_2O$ ), por lo cual requiere una menor o igual concentración para promover una mejor respuesta productiva, inmune, mayor resistencia de piel, intestinos y hueso, menor incidencia y severidad de lesiones en cojinete plantar y un mejor emplume.

### **5.2 Objetivo**

Comparar la biodisponibilidad, respuesta productiva, respuesta inmune, resistencia de piel, intestino y hueso, emplume e incidencia y severidad de lesiones en cojinete plantar; al utilizar como fuentes de zinc el  $Zn(HMTBa)_2$  o  $ZnSO_4 \cdot H_2O$  a diferentes niveles de inclusión (25, 50, 75 y 100 mg/kg Zn de alimento) en dietas para pollos de engorda.

### **5.3 Materiales y métodos**

#### **Animales y dietas**

Se utilizaron 216 pollos de engorda machos de estirpe Ross X Ross 308 del día 1 al 21 de edad obtenidos de una incubadora comercial. Los pollos fueron alojados en baterías Petersime y se mantuvieron bajo una fase de alimentación con iluminación continua los primeros dos días de edad y posteriormente con 23 horas de iluminación por el resto del periodo. El alimento y el agua siempre estuvieron disponibles. El alimento se ofreció en forma de harina. La temperatura inicial fue de 30°C siendo disminuida gradualmente hasta 23°C.

Las aves fueron distribuidas en 9 tratamientos con 4 repeticiones de 6 pollos cada una. El diseño experimental consistió en un diseño completamente aleatorizado con un arreglo factorial en los tratamientos (2X4) y un control. Los tratamientos (Cuadro 3) consistieron en la adición de zinc a partir de  $Zn(HMTBa)_2$  o de  $ZnSO_4 \cdot H_2O$  con

cuatro niveles de inclusión (25, 50, 75 y 100 mg/kg) en una dieta a base de maíz-soya (Cuadro 4).

### **Variables productivas**

Durante el periodo experimental (día 1 al día 21), fue obtenido semanalmente el peso corporal individual, consumo de alimento, mortalidad y el índice de conversión alimenticia (calculado como la razón del consumo de alimento acumulado por pollo entre el peso promedio por pollo).

### **Resistencia de intestino y hueso**

Al día 21 de edad se tomaron muestras de piel, intestino y hueso de 5 pollos por repetición para determinar resistencia del intestino, piel y hueso.

Los pollos fueron sacrificados por dislocación cervical, posteriormente la tibia derecha de cada ave fue removida y diseccionada para determinar la resistencia al rompimiento en hueso; esta evaluación se realizó con la ayuda de un dinamómetro digital (IMADA MV 110) tomando una distancia fija de 3.6 cm entre las dos columnas de soporte (Fig. 2). Los resultados se expresan en kilogramos de fuerza aplicada (Kgf). Posteriormente los huesos fueron colocados en bolsas de polietileno para la subsecuente determinación de zinc.

La porción utilizada para determinar la resistencia de intestino se tomó a partir del divertículo de Meckel, midiendo dos centímetros en ambas direcciones y la resistencia de la piel de pechuga se realizó con una porción de piel de 3 por 5 cm centímetros.

### **Determinación de cenizas y zinc en hueso**

Para determinar la concentración de zinc en hueso se utilizaron las tibias derechas de 3 aves por cada repetición. La medición de zinc en hueso se realizó en cada una de las tibias. Las tibias fueron limpiadas de cualquier tejido adherente que presentaran y posteriormente desgrasadas en alcohol etílico al 99% por 48 horas, una vez desengrasadas fueron secadas a 70° C por 24 horas. Las muestras secas

fueron sometidas una temperatura de 500°C por 16 horas para obtener las cenizas. El porcentaje de cenizas se calculó en relación al peso de materia seca de las tibias. Las cenizas resultantes fueron solubilizadas en 10 ml de HCL 6 N y 30 ml de agua destilada con ayuda de una parrilla eléctrica (300°C por 15 minutos). La solución fue filtrada (papel filtro Wathman 42) y transferida a un matraz de 100 ml, posteriormente se añadió agua destilada para completar los 100 ml. Las soluciones preparadas se analizaron por medio de un espectrofotómetro de absorción atómica para determinar la concentración de zinc.

### **Determinación de Zn en heces al día 20 de edad**

Las heces fueron recolectadas en tres tiempos con cuatro horas de espacio entre cada recolección. Después de su recolección, las muestras fueron colocadas en frascos de polietileno y mantenidas en congelación hasta su análisis. Las heces fueron deshidratadas a 70° C por 48 hrs. Una vez deshidratadas fueron sometidas a una temperatura 500°C por 16 horas para obtener las cenizas. El peso de las cenizas se calculó en relación al peso húmedo para obtener el porcentaje de cenizas. La obtención de soluciones y la determinación de la concentración de Zn fueron realizadas con la misma metodología usada en las muestras de tibia.

### **Hipersensibilidad cutánea basófila retardada**

Al día 20 de edad a 3 pollos por cada repetición se les midió el grosor de la membrana interdigital entre el tercer y cuarto dedo en ambas patas con ayuda de un vernier digital, posteriormente fueron inyectados con 100 µg de PHA-P (fitohemoaglutinina; lectina de *phaseolus vulgaris*) en 0.10 ml de solución salina fisiológica (SSF) en la membrana interdigital de la pata izquierda y el 0.10 ml de SSF en la pata derecha. A las 24 horas fue determinada la respuesta de hipersensibilidad cutánea retardada midiendo el aumento en el grosor de la membrana interdigital.

La respuesta de hipersensibilidad basófila retardada (HBR) fue medida de acuerdo a Corrier y DeLoach (1990) como:

HBR= (respuesta a la inyección de PHA-P en la pata derecha) – (respuesta a la inyección de solución salina fisiológica en la pata izquierda)

### **Determinación de anticuerpos séricos contra el virus de la enfermedad de Newcastle**

Para evaluar la respuesta de producción de anticuerpos contra el virus de la enfermedad de Newcastle (ENC), en el 10° día de edad los pollitos fueron vacunados vía ocular contra el virus de ENC con la aplicación de una vacuna virus vivo atenuado (titulada en  $10^{7.2}$  DIEP<sub>50</sub>/ml). En el día 21 de edad (11 post vacunación) fueron obtenidas nuestras de sangre sin anticoagulante (aproximadamente 2ml) para determinar al título de anticuerpos por medio de la prueba de inhibición de la hemoaglutinación. La prueba de inhibición de la hemoaglutinación se realizó con el método beta (suero diluido-virus constante) utilizando 10 unidades hemoaglutinantes.

El análisis estadístico se realizó con la media geométrica del título de anticuerpos en cada repetición usando el  $\log_{10}$  de los títulos de anticuerpos.

### **Incidencia y severidad de lesiones en cojinete plantares**

La incidencia de lesiones en cojinete plantar fue evaluada en 5 pollos por cada repetición asignando un puntaje de 0 en patas sin lesiones; 1 en patas con ligera coloración roja y ligeras contusiones; 2 en patas con cortadas y contusiones ligeras a moderadas (< 5mm); y 3 en patas con cortadas, lesiones y contusiones grandes (> 5mm).

### **Longitud de la tercera pluma primaria del ala**

La medición de la longitud de la tercera pluma primaria del ala derecha se realizó en 5 pollos por repetición.

### **Análisis estadístico**

Las variables de peso, consumo de alimento, conversión alimenticia, resistencia de piel, intestino y hueso, respuesta basófila cutánea, concentración de zinc en heces y hueso, porcentaje de cenizas en hueso, longitud de la tercera pluma primaria del ala, media geométrica del título de anticuerpos fueron sometidas a un análisis de varianza con arreglo factorial 2 X 4 con un control, en donde un factor fue el tipo de fuente y el otro el nivel de inclusión de Zn.

$$y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + \varepsilon_{ijk}$$

$$i = 1, 2 \qquad j = 1, 2, 3, 4$$

$\mu$  = Media general.

$\alpha_i$  = Efecto fijo del  $i$ -ésimo tipo de fuente.

$\beta_j$  = Efecto fijo del  $j$ -ésimo nivel de inclusión.

$(\alpha\beta)_{ij}$  = Efecto de interacción entre el  $i$ -ésimo tipo de fuente y el  $j$ -ésimo nivel de inclusión.

$\varepsilon_{ijk}$  = Efecto del error experimental para el  $j$  del  $i$ -ésimo tratamiento el  $i$ -ésimo tipo de fuente con el  $j$ -ésimo nivel de inclusión.

## **5.4 RESULTADOS**

### **VARIABLES PRODUCTIVAS**

El análisis de varianza indica los efectos principales de fuente de zinc, nivel de inclusión e interacción que no fueron significativos ( $P > 0.05$ ) para las variables de peso, consumo de alimento y conversión alimenticia en ninguna de las tres semanas de edad (Cuadros 5, 6 y 7). La mortalidad tampoco fue significativamente diferente ( $P > 0.05$ ) (Cuadro 8).

### **Determinación de cenizas y zinc en hueso**

No se encontraron efectos significativos ( $P>0.05$ ) en la fuente de zinc, el nivel de inclusión o la interacción con respecto al porcentaje de cenizas (Cuadro 9) ni con respecto a concentración de zinc en hueso (Cuadro 10).

### **Determinación de cenizas y Zn en heces al día 20 de edad**

La fuente, el nivel de inclusión y la interacción no se mostraron significativos ( $P>0.05$ ) en el porcentaje de ceniza en heces (Cuadro 11). En el análisis de varianza se observó que el tipo de fuente, nivel de inclusión y su interacción fueron significativos ( $P<0.05$ ) para concentración de zinc en heces (Cuadro 12). El contraste entre los diferentes niveles de inclusión de las dos fuentes señala que en los niveles de inclusión de 25 y 50 mg/kg de Zn hubo diferencias ( $P<0.05$ ), así mismo se observó un efecto lineal al nivel de inclusión ( $P<0.05$ ), es decir a medida que aumentó la suplementación de Zn en las dietas mayor fue la excreción (Fig. 3 y 4).

### **Hipersensibilidad cutánea basófila retardada**

La prueba de hipersensibilidad basófila retardada al día 14 de edad no tuvo efectos significativos de nivel de inclusión ni de interacción, sin embargo si mostró efecto de la fuente (Cuadro 13), estos resultados indican una mayor respuesta con la inclusión de zinc a través de  $\text{Zn}(\text{HMTBa})_2$  en comparación con el sulfato de zinc (Fig. 5), al realizar contrastes entre los diferentes niveles de inclusión se observaron diferencias entre las fuentes en el nivel de inclusión de 75 mg/kg (Fig. 6).

La prueba de hipersensibilidad basófila cutánea retardada en el día 20 de edad muestra que no se detectaron efectos significativos con respecto al nivel de inclusión, fuente o efectos de interacción ( $P>0.05$ ) (Cuadro 14), sin embargo existe una tendencia a una mayor respuesta con la adición de  $\text{Zn}(\text{HMTBa})_2$  ( $P=0.059$ ) (Fig.7).

### **Determinación de anticuerpos séricos contra el virus de la enfermedad de Newcastle**

El análisis de varianza (Cuadro 15) indicó que no se observaron efectos de fuente, nivel de inclusión o interacción ( $P > 0.05$ ), habiendo una tendencia a un mayor título de anticuerpos con la inclusión de  $Zn(HMTBa)_2$  como fuente de zinc (Fig. 8)

### **Incidencia y severidad de lesiones en cojinete plantares**

Los pollos no presentaron puntajes mayores a 2, de tal manera que para el análisis estadístico los pollos se consideraron como: sin lesiones o con lesiones en el cojinete plantar. Se detectaron diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos con respecto a la incidencia de lesiones en cojinete plantar. Los pollos con el nivel de inclusión de 25 mg/kg de zinc de ambas fuentes tuvieron una menor incidencia de lesiones ( $P < 0.05$ ) que los pollos con una inclusión de 50 mg/kg de zinc como  $ZnSO_4 \cdot H_2O$  (Cuadro 16).

### **Longitud de la tercera pluma primaria del ala**

El análisis estadístico no mostró efectos significativos debidos a la fuente de zinc, nivel de inclusión o de interacción ( $P > 0.05$ ) (Cuadro 17).

### **Resistencia de hueso, piel e intestino**

No se encontraron efectos estadísticamente significativos de fuente, nivel de inclusión o su interacción con respecto a la resistencia de tejidos ( $P > 0.05$ ) (Cuadro 18).

## **6. EXPERIMENTO 2**

### **6.1 Hipótesis**

Las aves alimentadas con dietas adicionadas con minerales quelados con HMTBa (Zn o Zn+Mn+Cu) tienen una mejor respuesta productiva respuesta inmune, resistencia de piel, intestino y hueso, menor incidencia y severidad de pododermatitis plantar, y una mayor integridad de la piel de la pechuga, piernas y muslos en comparación a la dieta basal con inclusión de Zn, Mn y Cu en forma de sulfatos.

### **6.2 Objetivo**

Evaluar y comparar la respuesta productiva, respuesta inmune, resistencia de piel, intestino y hueso, incidencia y severidad de pododermatitis plantar e integridad de la piel de la pechuga, piernas y muslos en pollos de engorda al adicionar un complejo orgánico de zinc ( $Zn(HMTBa)_2$ ) en dos niveles de inclusión (40 o 80 mg/kg en alimento), una combinación de Zn, Mn y Cu (40, 40 y 20 mg/kg en alimento, respectivamente) también como complejo orgánico con HMTBa, o al utilizar el alimento basal (el cual contenía Zn, Mn y Cu en forma de sulfatos).

### **6.3 Materiales y métodos**

#### **Animales y dietas**

Se utilizaron un total de 6000 pollos de engorda Ross X Ross 308 machos y hembras del día 1 al 49 edad, estos fueron asignados de una manera aleatoria en cuatro tratamientos con 10 repeticiones de 150 aves cada una. Cada corral se considero como una unidad experimental. La granja experimental se encuentra ubicada en el área del Bajío, a una altura 1730 m.s.n.m., bajo un clima semiseco semicálido con una temperatura media anual de 19 °C y una precipitación que varia de 600 a 800mm. Para el experimento se utilizó en una caseta de ambiente natural.

El alimento fue formulado para 3 fases; 1-21, 22-35 y 36-49 días de edad y se ofreció en forma de harina en las 3 fases.

Las dietas basales para iniciación, crecimiento y finalización consistieron en una dieta maíz-soya suplementada con sulfato de Zn para contener en cada fase 120, 100 y 80 mg/kg de zinc respectivamente, así como 50 mg/kg de manganeso y 15 mg/kg de cobre en los tres periodos (Cuadro 19).

Los tratamientos consistieron en:

**Tratamiento 1:** dieta basal formulada para cumplir con los requerimientos señalados por la estirpe de 100 mg/kg.

**Tratamiento 2:** dieta basal más la adición de  $Zn(HMTBa)_2$  para un aporte extra de Zn de 40 m/Kg, proporcionando un aporte total de 160, 140 y 120 mg/kg de Zn para cada fase de alimentación.

**Tratamiento 3:** dieta basal más la adición de  $Zn(HMTBa)_2$  con un aporte extra de 80 m/Kg de Zn. El tratamiento fue formulado para aportar un total de 200, 180 y 160 mg/kg de Zn en cada fase de alimentación.

**Tratamiento 4:** con adición de 40, 40 y 20 m/Kg de Zn, Mn y Cu respectivamente (en forma quelada con HMTBa) a la dieta basal. El aporte total de minerales para este tratamiento fue de 160, 140 y 120 mg/kg de Zn en cada fase y 90 y 35 mg/kg de Mn y Cu respectivamente en las tres fases de alimentación.

La adición de minerales quelados con HMTBa proporcionó un aporte extra a la dieta basal de HMTBa con 80% de su peso como metionina en los niveles de inclusión de 40 y 80 mg/kg de Zn, y de 54% con la mezcla de 40, 40, y 20 mg/kg de Zn, Mn y Cu. El Cuadro 20 muestra el análisis químico proximal determinado en las dietas experimentales.

#### **Variables productivas:**

Semanalmente fue obtenido el peso corporal promedio, el consumo de alimento, la mortalidad y el índice de conversión alimenticia de cada unidad experimental. El

índice de conversión alimenticia se calculó como la razón del consumo de alimento acumulado por pollo entre el peso promedio por pollo.

### **Peso, y evaluación resistencia de tejidos y lesiones en cojinetes plantares**

Los días 21 y 48 de edad se seleccionaron tres pollos machos al azar de cada repetición para medir el peso corporal, resistencia de tejidos y evaluar la presencia de pododermatitis.

La evaluación de incidencia de lesiones en cojinete plantar, así como la determinación de resistencia de tibia, intestino y piel fue determinada utilizando la metodología descrita en el experimento uno.

### **Determinación de incidencia y severidad de lesiones en cojinete plantar e integridad de piel de pechuga, piernas y muslos, día 48**

En el día 48, se tomaron 5 aves por repetición para determinar la incidencia y severidad de pododermatitis plantar, integridad de la piel de la pechuga, piernas y muslos. La evaluación fue realizada por personal altamente capacitado de un rastro local.

Con respecto a la presencia de pododermatitis, las aves se clasificaron como: pododermatitis grado cero, de primer grado o segundo grado (en caso de presentarlo en cualquiera de las dos patas). Para la evaluación de integridad de piel de pechuga, piernas y muslo, los pollos fueron clasificados como: sin rasgaduras y con rasgaduras de primer o segundo grado. En el caso de las piernas y muslos la presencia de rasgaduras fue diferenciada en una dos piernas o muslos (el registro de los datos se ejemplifica en el Cuadro 21).

### **Título de anticuerpos**

Al día 18 pos vacunación se cuantificó el título de anticuerpos contra el virus de la enfermedad de Newcastle mediante la prueba de inhibición de la hemoaglutinación, con el método beta (suero diluido-virus constante) utilizando 10 unidades

hemoaglutinantes y se obtuvo la media geométrica del título de anticuerpos usando el  $\log_{10}$  del título de anticuerpos. Los pollos fueron vacunados a los 7 días de edad.

### **Determinación cenizas y de zinc en hueso**

La determinación de la concentración de zinc en hueso fue realizada utilizando las tibias derechas de tres aves por cada repetición. Para la medición de cenizas y zinc en hueso se hizo una mezcla con las tres tibias de cada repetición y se siguió la metodología descrita en el primer experimento.

### **Análisis estadístico**

El diseño experimental correspondió a un diseño completamente aleatorizado. Las variables semanales peso corporal promedio, consumo de alimento, índice de conversión alimenticia y mortalidad (transformada como la función  $\sqrt{y+0.5}$ , a partir de la cuarta semana) fueron sometidas a un análisis de varianza considerando el modelo completamente al azar:

$$y_{ij} = \mu + \tau_i + \varepsilon_{ij}$$

$$i = 1, 2, 3, 4 \quad j = 1, 2, \dots, 10 \quad k = 1, 2, 3$$

$\mu$  = Media general

$\tau_i$  = Efecto fijo del  $i$ -ésimo tratamiento

$\varepsilon_{ij}$  = Efecto del error experimental para la unidad  $j$  del  $i$ -ésimo tratamiento

Las variables de peso corporal a los 21 y 48 días, resistencia de intestino, piel y tibia fueron sometidas a un análisis de varianza utilizando siguiente modelo:

$$y_{ijk} = \mu + \tau_i + \varepsilon_{ij} + d_{ijk}$$

$$i = 1, 2, 3, 4 \quad j = 1, 2, \dots, 10 \quad k = 1, 2, 3$$

$\mu$  = Media general

$\tau_i$  = Efecto fijo del  $i$ -ésimo tratamiento

$\varepsilon_{ij}$  = Efecto del error experimental para la unidad  $j$  del  $i$ -ésimo tratamiento

$d_{ijk}$  = Efecto aleatorio para la  $k$ -ésima submuestra de la unidad experimental  $j$  del tratamiento  $i$

En los casos que en que se detectaron efectos significativos entre tratamientos ( $P < 0.05$ ) se realizaron comparaciones múltiples de medias por medio de la prueba de Tukey, para ésta prueba se consideró  $\alpha = 0.05$ .

Las variables de mortalidad (en las primeras 3 semanas), incidencia y severidad de lesiones en cojinete plantar e incidencia de lesiones en piel fueron sometidas a pruebas de Independencia para determinar diferencias entre los tratamientos considerando  $\alpha = 0.05$ .

## **6.4 Resultados.**

### **Parámetros productivos.**

No se encontraron diferencias estadísticas significativas con respecto al peso corporal y conversión alimenticia entre ninguno de los tratamientos durante todo el periodo de experimentación ( $P > 0.05$ ). La mortalidad fue mayor en el tratamiento cuatro en las primeras tres semanas ( $P < 0.05$ ), posteriormente no se observaron diferencias estadísticas significativas. En cuanto al consumo de alimento solo se muestran diferencias estadísticas significativas en el consumo de alimento en la 6ª semana; en donde hay diferencia entre el tratamiento dos y tres, durante todo el periodo el tratamiento dos tuvo una tendencia de menor consumo con respecto a los demás tratamientos. En el día 48 de edad se muestran diferencias significativas con respecto a la conversión alimenticia entre los tratamientos 2 y 4 ( $P < 0.05$ ). Los

parámetros productivos obtenidos en cada una de las 7 semanas de edad se muestran en el Cuadro 22.

### **Peso corporal, resistencia de tejidos y evaluación de pododermatitis en los días 21 y 48 de edad**

El peso corporal a los 21 y 48 días de edad no mostró diferencias ( $P>0.05$ ) entre los tratamientos. La resistencia de intestino, piel y hueso no fue diferente en los tratamientos al día 21 de edad. En el día 48 se observó que el tratamiento 4 presentó una mayor resistencia de piel ( $P<0.05$ ; Fig. 9), mientras que en las variables de resistencia de intestino y hueso no hubo un efecto significativo ( $P>0.05$ ). Los resultados obtenidos a los días 21 y 48 de edad se muestran en el Cuadro 23. En cuanto a la presencia de lesiones en cojinete plantar al día 21 de edad no hubo un efecto significativo entre tratamientos y en el día 48 el tratamiento 4 presentó una menor incidencia de lesiones en cojinete plantar (pág. 81 Fig. 10, pág. 69 Cuadro 24).

### **Porcentaje de ceniza en hueso y concentración de zinc**

No se encontraron diferencias entre tratamientos en el porcentaje de ceniza o concentración de zinc en hueso al día 21 o 48 de edad ( $P>0.05$ ). Los resultados obtenidos de muestran en el Cuadro 25.

### **Determinación de incidencia de pododermatitis plantar e integridad de piel de pechuga, piernas y muslos al día 48**

El tratamiento 4 mostró una menor incidencia de pododermatitis plantar de primer grado, menor número de aves con rasgados de primer y un mayor número de aves sin defectos ( $P<0.05$ ; Cuadro 26).

### **Título de anticuerpos**

La media geométrica del título de anticuerpos del tratamiento cuatro se mostró mayor a los demás tratamientos (Cuadro 27, fig. 11).

## 7. DISCUSIÓN

### Parámetros productivos

En el primer experimento la cantidad de zinc determinado en el alimento basal fue de 45 mg/kg de Zn, y en el segundo experimento en la dieta basal (tratamiento 1) fue de 120 mg/kg. En ambos experimentos los tratamientos contuvieron cantidades mayores a los requerimientos establecidos por el NRC en base a peso corporal y crecimiento (40 mg/kg de Zn). En el experimento 1 no se detectaron diferencias entre los tratamientos en peso corporal, consumo de alimento, conversión alimenticia o mortalidad al día 21 de edad y en el experimento 2 no hubo diferencias en el peso corporal, consumo de alimento y conversión alimenticia. Aunque la mortalidad del tratamiento 4 fue mayor con respecto a los demás en las primeras tres semanas, las causas no fueron determinadas y no se mostraron diferencias significativas a partir del día 21 de edad entre tratamientos.

Los resultados del primer experimento concuerdan con otros estudios previos como el realizado por Mohanna y NYS (1999a) que indican que al complementar con 25 mg/kg a una dieta basal que contenía 20 mg/kg de Zn (45 mg/kg total) se obtiene máximo peso corporal y que al añadir Zn a razón de 10 mg/kg (35 mg/kg total) se optimiza la conversión alimenticia independientemente de la fuente de Zn (sulfato o metionina de Zn). Burrell *et al.*, (2004) mostraron que no hay un efecto con respecto a peso corporal, conversión alimenticia o mortalidad al adicionar diferentes niveles de zinc (20, 40, 80 mg/kg de Zn) a una dieta basal (maíz- pasta de soya) que contuvo 30 mg/kg de Zn en pollos hasta el día 20 de edad (como sulfato o complejo de metal-aminoácido). Dozier *et al.*, (2003) no encontraron diferencias en peso corporal, conversión alimenticia, o mortalidad al usar una dieta basal que contenía 30 mg/kg de Zn en pollos de engorda hasta el día 17 de edad con respecto a la adición de Zn (40, 80 y 120 mg/kg como sulfato o proteínato). De igual manera a los estudios anteriores Huang *et al.*, (2007) y Wedekind *et al.*,

(1992) no encontraron una mayor respuesta a parámetros productivos cuando la dieta contenía más de 48 mg/kg y 45 mg/kg de Zn respectivamente.

La utilización de 40 mg/kg de Zn en la dieta (recomendada por el NRC, 1994) puede ser lo adecuado para mantener inalterados los parámetros productivos en pollos hasta el día 21 de edad. Las cantidades de adición de Zinc a nivel comercial se encuentran alrededor de 120 a 150 mg/kg en todo el ciclo productivo y por lo general no es tomado en consideración el aporte de los minerales traza de los ingredientes utilizados.

A la edad de 48 días los tratamientos no muestran diferencias en peso corporal, consumo de alimento o mortalidad, y aunque se encontraron diferencias entre el tratamiento 2 y 4 al día 48 en la conversión alimenticia, siendo menor el tratamiento 2, el consumo de alimento y peso corporal en el tratamiento 2 tuvieron una tendencia a ser menores durante todo el periodo. En los resultados obtenidos al día 48 de edad no se detectó un efecto en peso corporal, conversión alimenticia, consumo de alimento o mortalidad cuando se añadió Zn (40 o 80 mg/kg) en forma de  $Zn(HMTBa)_2$  o la combinación de Zn, Cu y Mn en su forma quelada con HMTBa (40, 20, 40 mg/kg de Zn, Cu y Mn respectivamente) a una dieta base suplementada con 120, 100 y 80 mg/kg de Zn (como  $ZnSO_4 \cdot H_2O$ ) para cada fase de alimentación respectiva.

Con respecto a las variables productivas, estudios recientes señalan que al disminuir la cantidad de zinc añadida comúnmente (100 a 120 mg/kg) no hay un efecto significativo, por ejemplo Leeson y Caston (2008) encontraron que al utilizar una dieta maíz-soya con una inclusión de 8 mg/kg de Zn, 11 de Mn, de 0.7 Cu y 12 de Fe no hubo diferencias con respecto a otra dieta con niveles de inclusión de 60 mg/kg de Zn, 77 Mn, 5 Cu y 85 como proteínatos en cuanto al peso corporal, conversión alimenticia o consumo de alimento en el día 42 de edad. En otro experimento Nollet *et al.*, (2007) al añadir niveles bajos de minerales orgánicos (10

ppm de Zn, Mn, y Fe, y 2.5 ppm de Cu como proteínatos) en una dieta maíz-soya no encontraron diferencias en peso corporal, consumo de alimento, conversión alimenticia o mortalidad en día el 39 de edad a comparación de utilizar minerales inorgánicos a niveles de inclusión de 12 ppm de Cu (CuSO<sub>4</sub>; 25%), 37 de Zn (ZnSO<sub>4</sub>; 35%), 70 de Mn (MnO; 52%) y 45 de Fe (FeSO<sub>4</sub>; 30%).

### **Cenizas en hueso**

Experimentos como el de Burrell *et al.*, (2004) señalan que no hay diferencias con respecto al porcentaje de cenizas al día 45 de edad, cuando la concentración de Zn en la dieta es de 30 mg/kg hasta 110 mg/kg. De igual manera Mohanna y Nys (1999a) observaron que la cantidad de cenizas en tibia aumentó hasta que la dieta basal (con 20 mg/kg de Zn) fue suplementada con 25 mg/kg de Zn (45 mg/kg de Zn totales en la dieta), una mayor adición no tuvo efecto (ya sea como sulfato o metionina de Zn). En el presente la dieta basal contuvo 45 mg/kg y la concentración de cenizas en hueso no presentó diferencias entre los tratamientos. Otro estudio realizado por Dozier *et al.*, (2003), mostró que no existen diferencias en el porcentaje de cenizas en hueso al agregar de manera gradual concentraciones de Zn a una dieta basal con 30 mg/kg de Zn con adiciones desde 40 hasta 120 mg/kg de Zn como sulfato de zinc. De acuerdo con los estudios mencionados, los resultados obtenidos en los experimentos 1 y 2 indican que el porcentaje de cenizas en hueso no es diferente en los rangos de 45 a 145 mg/kg de Zn en la dieta.

### **Zinc en hueso**

Con respecto a la concentración de Zn en hueso Mohanna y Nys (1999a) en uno de sus experimentos encontraron que la concentración de zinc en hueso incrementó de manera lineal cuando la cantidad de este elemento en la dieta basal siendo de 20 mg/kg fue adicionada hasta con 40 mg/kg (como sulfato o metionina de Zn), y en otro experimento la concentración máxima de Zn en hueso se logró cuando la dieta fue formulada para contener 75 mg/kg de Zn. En otros estudios,

como el de Sandoval *et al.* (1997), la concentración de Zn en tibia mostró tener un efecto lineal, y además señalan que la cantidad de Zn en tibia aumentó notoriamente cuando la dieta basal (que contenía 35 mg/kg) fue suplementada con 40 mg/kg, con un menor incremento al adicionar 80 mg/kg extra. Huang *et al.*, (2007), al utilizar una dieta basal con un aporte de 28.37 mg/kg de Zn y al añadir niveles graduales de Zn (20, 40, 60, 80 100, 120, 140) concluyeron que el nivel óptimo de este mineral en la dieta basándose en la concentración de zinc en hueso fue de 61.70 mg/kg. Los estudios realizados Wedekind *et al.*, (1990) señalan que existen un efecto lineal en la concentración de zinc en tibia con niveles de suplementación mayores de 40 mg/kg, sin embargo la pendiente disminuye marcadamente cuando la concentración de zinc suplementado en la dieta es mayor de 40 mg/kg de Zn, en estos estudios las ganancias lineales ocurrieron entre los niveles dietarios de 13 (dieta basal) y 53 mg/kg.

En este estudio es de comprender que no se observara un efecto lineal, ya que las concentraciones de Zn en la dieta fueron de 45 mg/kg la mínima y en los demás tratamientos de 70, 95, 120, 145 mg/kg, sin embargo se debe señalar que no se encontraron diferencias entre la dieta basal y el nivel más bajo de adición ya sea como sulfato o quelado con hidroxianálogo de metionina.

La controversia de la mayor biodisponibilidad de los minerales orgánicos surge a partir de estudios como el de Wedekind *et al.*, (1992) ya que reportaron que la metionina de zinc tiene una mayor biodisponibilidad con respecto al óxido o sulfato de zinc. Al establecer el sulfato de zinc ( $ZnSO_4 \cdot H_2O$ ) como estándar al 100%, infirieron que la biodisponibilidad de metionina de zinc fue de 117% en una dieta purificada (aminoácidos cristalizados) y de 177% en una dietas con aislado de soya. Es necesario mencionar que en las dietas basales utilizadas la concentración de Zn fue de 1 y 13 mg/kg respectivamente y los niveles de suplementación fueron de 0, 7.5 y 15 mg/kg de Zn en el primer caso, y de 0, 3, 6 y 9 mg/kg de Zn en el segundo caso; en este mismo estudio al utilizar una dieta con base en maíz-soya los puntos de inflexión para la concentración de Zn en hueso

ocurrieron a los 60 y 54 mg/kg para el sulfato y la metionina de zinc respectivamente. Ao y Pirce., (2006) de manera similar, encontraron que al utilizar un proteinato e comparación con sulfato de zinc solo detectaron diferencias a niveles de inclusión menores de 20 mg/kg (dieta basal con 23 mg/kg Zn). Basándose en la pendiente debajo del punto de quiebre, la biodisponibilidad relativa del proteinato mostró ser de 202%, y determinaron que los requerimientos de zinc para pollos pueden lograrse con la adición del proteinato a un nivel de 6.3 mg/kg Zn en una dieta maíz-soya. Estos estudios que muestran una mayor biodisponibilidad fueron realizados con dietas purificadas, semipurificadas o dietas maíz-soya con niveles bajos de Zn.

En el presente estudio no se observaron diferencias en la concentración de Zn en hueso entre el sulfato de Zn y el HMTBa quelado con Zn ya los niveles de inclusión fueron elevados (25, 50, 75 y 100 mg/kg) y la dieta contuvo 45 mg/kg de Zn. Otros estudios muestran que no existen diferencias en la biodisponibilidad entre las fuentes orgánicas o inorgánicas de Zn (Pimentel *et al.*, 1991b; Wedekind *et al.*, 1994b; Mohanna y Nys, 1999a, Cao *et al.*, 2000).

La estabilidad de los complejos de minerales ha sido sugerida como la característica más importante en la determinación del valor de estos productos como complementos minerales en la nutrición animal. El porcentaje de un metal quelado puede caer de 90% a un pH de 6 a solo 10% a pH de 4 (Holwerda *et al.*, 1995) y la mayoría de los metales quelados en los cuales se involucran aminoácidos o proteínas son disociados a pH menores de 3 o mayores de 9, lo cual va a hacerlos similares a las formas inorgánicas en su comportamiento (Cao *et al.*, 2000). En este estudio no fue posible determinar si el Zn quelado con HMTBa tuvo una mayor biodisponibilidad que el sulfato de Zn, debido a que los niveles de inclusión fueron más elevados y en estos casos la concentración de Zn en tibia pudiera ser menos sensible. Por otro lado la molécula de HMTBa quelada con zinc, en estudios previos realizados *in vitro* demostró que a pH menor a 5 y utilizando la glicina como un ligando de competencia los únicos quelatos presentes

en las soluciones eran aquellos que contenían HMTBa (Predieri *et al.*, 2003) y aunque se sugiere que este quelato puede tener una mayor estabilidad, los quelatos al ser sometidos a un pH menor al que se puede encontrar en el tracto digestivo superior de las aves (pH de 2-3) la mayor proporción de zinc podría encontrarse libre.

En el segundo experimento tampoco se encontraron diferencias significativas con respecto a la concentración de Zn en hueso siendo los niveles de inclusión de igual manera mayores a los mencionados en donde se logra una máxima concentración de Zn. Puede ser que la concentración de Zn en hueso tanto en el experimento uno como en el dos no muestren diferencias significativas en estos rangos de inclusión, ya que en estudios como el de Sandoval *et al.* (1997) al adicionar Zn en exceso (400, 800, 1200 mg/kg) en uno de sus experimentos reportaron un efecto del nivel de inclusión; mientras que en otro experimento al añadir menores concentraciones no se observaron aumentada la concentración de Zn en hueso.

### **Zinc en heces**

En el experimento 1 la cantidad de zinc en heces aumentó de manera gradual con los niveles de inclusión, observándose un efecto lineal de manera similar a lo encontrado por Mohanna y Nys, (1999a); Dozier *et al.*, (2003) y Burrell *et al.*, (2004). Mohanna y Nys (1999a) observaron que una reducción de zinc dietario de 190 a 65 mg/kg disminuyó su concentración en excretas hasta en 75%, mientras que Dozier *et al.*, 2003 encontraron que al disminuir la adición de 120 a 40 mg/kg, se reducía la excreción en 50%. En este estudio la cantidad de zinc excretado cuando la dieta fue suplementada con 25 mg/kg fue 20% menor que al suplementar con 100 mg/kg de Zn como Zn(HMTBa)<sub>2</sub>, mientras que en el caso del sulfato fue 60% menor. De cualquier manera la colección de las excretas fue realizada en un solo día (día 20 de edad) por un periodo de 12 horas. Estudios en

donde se examine la excreción en múltiples periodos a través del ciclo productivo de las aves son necesarios.

Debido a que el porcentaje de Zn retenido disminuye con el aumento en la concentración de la dieta, una menor adición con un margen seguro en las dietas puede ayudar a reducir los riesgos de toxicidad de los suelos en áreas de cultivo.

### **Inmunidad**

La respuesta inmune en pollos y gallinas utilizando diferentes concentraciones de Zn en la dieta no es tan clara y en general no se han encontrado resultados concluyentes. Contrario a lo encontrado por Pimentel *et al.*, (1991a) en este estudio se observa que la respuesta celular inmune fue mayor con la suplementación de Zn(HMTBa)<sub>2</sub> y una tendencia a un mayor título de anticuerpos contra la enfermedad de Newcastle a comparación de la respuesta con sulfato de zinc. Pimentel *et al.*, (1991b) en uno de sus experimentos evaluaron la hipersensibilidad basófila cutánea retardada en pollos de engorda alimentados con dietas que contenían niveles de Zn de 8, 18, 28, 38, 48 y 58 mg/kg de Zn (como metionina de Zn u óxido) y no encontraron diferencias entre los niveles o la fuentes, en otro experimento al utilizar dietas con base en maíz-soya que contenían diferentes concentraciones de Zn 28, 38, 48, 58, 78 y 88 mg/kg (adicionado como óxido o sulfato) tampoco observaron diferencias en la respuesta celular o humoral. Pimentel *et al.*, (1991a) al utilizar una dieta semipurificadas adicionada con niveles graduales de ZnO encontraron que la respuesta de inmunidad celular retardada y humoral fue menor en los pollos al recibir dietas con menos de 18 mg/kg, a partir de esto sugirieron que los niveles de zinc en situaciones prácticas no son lo suficientemente bajos como para inducir cambios inmunológicos.

Mohanna Nys (1999a) a su vez no vieron afectado el título de anticuerpos contra glóbulos rojos sanguíneos, incluso cuando la dieta basal contuvo 20 mg/kg de Zn.

Por otro lado, Kidd *et al.*, (1992) aunque no demostraron diferencias a la prueba de hipersensibilidad basófila cutánea retardada al adicionar 40 mg/kg de Zn (óxido o

Met-Zn) a una dieta basal con 100 mg/kg de Zn en pollos de engorda, la progenie de reproductoras suplementadas con metionina de Zn tuvo una mayor respuesta celular inmune y mayor título de anticuerpos contra glóbulos rojos sanguíneos y *S. pullorum*. En otro un estudio realizado por Kidd *et al.*, (1993) se muestra que la respuesta a PHA en la progenie de reproductoras alimentadas con Met-Zn fue mejor.

Cuando Hudson *et al.*, (2004) evaluaron la respuesta celular y humoral en gallinas reproductoras, observaron que la adición de una dieta que contenía Zn quelado con aminoácidos (ZnAA) tuvo una mejor respuesta inmune (celular y humoral) que la que contenía de sulfato o la combinación de sulfato con ZnAA.

Se ha sugerido que la mejor respuesta inmune al utilizar minerales orgánicos, se debe a que presentan una mayor biodisponibilidad lo cual puede promover una mayor respuesta de las células que intervienen en los mecanismos de inmunidad y también a que el zinc a partir de fuentes orgánicas puede ser absorbido y metabolizado de diferente manera que las fuentes inorgánicas (Spears 1989, Kidd *et al.*, 1996; Power y Horgan, 2000).

En el segundo experimento se observa un notorio incremento numérico en el título de anticuerpos contra la ENC cuando se utilizó la combinación de Zn, Cu y Mn (quelados con HMTBa) a comparación de la adición de los diferentes niveles de Zn solo. Estos resultados sugieren un posible efecto de la adición de manganeso o del cobre o una posible interacción entre los minerales (Zn, Mn y Cu) en la respuesta inmunológica humoral.

### **Lesiones en cojinete plantar, resistencia intestino, hueso e integridad y resistencia de piel**

En el primer experimento la causa por la cual los tratamientos con 25 mg/kg de ambas fuentes presentaron diferencias con respecto al tratamiento con 50 mg/kg de Zn de sulfato en la incidencia de lesiones en cojinetes plantares no es aparente ya

que en este experimento no se encontró evidencia que los niveles de inclusión de Zn afectaran la integridad de tejidos. Es necesario señalar que las aves fueron alojadas en baterías hasta los 21 días de edad, lo cual es muy diferente a las condiciones de alojamiento de pollo de engorda a nivel comercial.

La presencia de pododermatitis plantar puede ocasionarse por diversos factores, dentro de los cuales el factor más importante es la condición de la cama en la caseta avícola (Ekstrand *et al.*, 1997), otro de los factores que incide en la presencia de pododermatitis plantar es el peso de las aves, Kristensen *et al.*, (2006) observaron que pollos con un peso mayor a 2400 g incrementaron la probabilidad a presentar lesiones moderadas en cojinete plantar.

En el presente estudio las aves se mantuvieron hasta el día 21 de edad, y con un peso menor al señalado. Greene *et al.*, (1985) al describir los hallazgos clínicos y patológicos de dermatitis por contacto en pollos de engorda señalaron que la incidencia de lesiones de pododermatitis se veía incrementada en pollos de más de 22 días de edad.

En el segundo experimento al día 21 de edad ninguno de los tratamientos mostró diferencias en la incidencia de lesiones en cojinete plantar; sin embargo, en el día 48 de edad, el tratamiento cuatro (dieta basal + mezcla de minerales) tuvo una menor incidencia de lesiones en comparación con la dieta basal o la dieta basal más la adición de 40 mg/kg de Zn. Aunque no se detectaron diferencias en los pollos de los tratamientos con los distintos niveles de Zn, el tratamiento con adición de 80 mg/kg de Zn no fue estadísticamente diferente al tratamiento cuatro. Rossi *et al.*, (2007) al utilizar una dieta basal adicionada con 60 mg/kg de sulfato y añadir gradualmente Zn en forma de proteinato (15, 30, 45, and 60 mg/kg) observaron una clara tendencia a mejorar la calidad de la piel con la adición de Zn, además observaron que el número células epiteliales y la fortaleza a los rasgados de piel se incrementaba de manera significativamente en pollos al día 42 de edad.

La evaluación de la integridad de la piel en los pollos de engorda (Cuadro 25) muestra que en general y de manera significativa los pollos que recibieron la combinación de Zn, Cu y Mn quelados con HMTBa tuvieron una mejor integridad de la piel, situación acorde a la menor incidencia de lesiones en cojinete plantar y la mayor resistencia de piel observada al día 48 de edad.

La adición gradual de Zn como  $Zn(HMTBa)_2$ , (tratamientos 1, 2 y 3) parece no tener un efecto en la integridad de la piel. Considerando que en el tratamiento cuatro la adición de Zn, Cu y Mn tuvo un efecto significativo, como lo señalan Dibner *et al.*, (2007) los minerales desempeñan funciones de manera integral como parte de las metaloenzimas en la formación de tejido conectivo; aunque la síntesis de colágeno requiere zinc, a menos que se encuentre una cantidad suficiente de este elemento, no habrá un entrecruzamiento correcto de las fibras y la estructura puede ser débil o puede fallar (Dibner *et al.*, 2007). El colágeno es la principal proteína del tejido conectivo responsable de la integridad estructural de la piel, cambios en las propiedades físicas y químicas del colágeno (como el entrecruzamiento, el estado de maduración y la razón entre el colágeno tipo I y tipo III) han mostrado resultar en su debilitamiento y en una mayor presencia de rasgados (Ramshaw *et al.*, 1986).

La importancia de los resultados obtenidos en la integridad de tejidos, radica en la que las aves decomisadas debido a rasguños puede ser de alrededor de 5% en las plantas de procesamiento (Leeson, 2005), representando pérdidas económicas sustanciales en la industria de los pollos de engorda.

Con respecto a la resistencia de hueso, Shelton y Southern (2007) señalan que aumentó con la adición de 75 mg/kg como sulfato de Zn a una dieta basal maíz-soya que contuvo 28 mg/kg; sin embargo, señalan que el peso corporal también se vio afectado. En el experimento 1 los resultados indican que el peso tiene un efecto muy significativo en la resistencia de tibia (Cuadro 18), por lo cual los

resultados mostrados por Shelton y Southern (2007), pudieran estar correlacionados a un menor peso corporal. Aún al tomarse el peso corporal en cuenta no se observaron diferencias significativas en la resistencia de hueso, por lo cual la cantidad de 45 mg/kg de Zn es adecuada para un máximo peso corporal y resistencia de tibia.

### **Emplume**

Estudios en los que se muestra un emplume anormal como deficiencia de Zn, ha sido necesario utilizar dietas purificadas y tener una especial precaución para eliminar la contaminación de fuentes extra-dieta; tales como comederos y bebederos galvanizados y alojar a las aves en baterías (Savage y O'Dell, 1959) ya que este signo no se observa con la utilización de dietas convencionales. De acuerdo a los resultados obtenidos en la longitud de la tercera pluma primaria del ala, en donde no hay diferencias estadísticas, es probable que todas las dietas proveyeran la cantidad de zinc adecuada para evitar un emplume anormal al día 21 de edad.

### **Requerimientos de Zn**

En la determinación correcta de requerimientos de Zn debe tomarse en cuenta la fuente, el tipo de dieta y el criterio de respuesta.

El Zn es añadido en las dietas para pollos de engorda debido a que la cantidad de zinc en estas es variable y a que pueden ser marginalmente deficientes tomando como consideración los requerimientos establecidos con base en crecimiento y conversión alimenticia (40 mg/kg). En el cuadro 28 se muestran algunos valores de Zn encontrados cuando se utilizaron dietas con base en maíz-soya.

Aunque en esta investigación se observó que los parámetros productivos no se veían afectados con concentraciones mayores a 45 mg/kg de Zn en la dieta, y que usualmente se ha considerado el peso corporal y conversión alimenticia como los criterios para determinar los requerimientos de minerales traza, es necesario

señalar que el peso corporal puede verse influenciado por muchos factores, lo cual lo hace posiblemente un criterio poco sensible para la estimación de los requerimientos de Zn y tal vez otros minerales.

Mientras que desde el punto de vista comercial la tasa de crecimiento y la eficiencia alimenticia pueden ser lo más importante, la concentración de minerales traza (tales como manganeso o zinc) en hueso ha demostrado ser mejor criterio en la determinación de sus requerimientos. Aunado a esto, se ha señalado que la concentración de Zinc en tibia, pudiera no ser el único parámetro tomado en cuenta para determinar los requerimientos, otras variables como la actividad enzimática, la presencia o expresión de la metalotioneína y la síntesis de transportadores de Zn (ZnT2) pueden ser tomadas en cuenta. Como ejemplo; en el experimento realizado Huang *et al.*, (2007) aunque señalan que el peso corporal no se vio afectado con una adición más allá de 20 mg/kg de Zn (adicionado como sulfato) a una dieta basal con 28 mg/kg (48 mg/kg total), las concentraciones de zinc en hueso y en páncreas aumentaron de manera lineal hasta la adición de 40 mg/kg (68 mg/kg de Zn total en la dieta) y la actividad de la 5' nucleotidasa sérica y el nivel de RNAm para ZnT2 pancreática mostraron una respuesta cuadrática. Los requerimientos de Zn al tomar en consideración las concentraciones de Zn en páncreas y hueso fueron de 59.15 y 61.70 mg/kg, mientras que para la actividad de la 5' nucleotidasa sérica y el nivel de RNAm para ZnT2 pancreática fueron de 80.50 y 84.09 mg/kg respectivamente hasta los 21 días de edad. Tampoco es sorprendente que las necesidades de las aves para la inmunidad no sean paralelas a el crecimiento y productividad en las aves (Kidd *et al.*, 2004).

Otro factor que debe ser tomado en cuenta es que la mayoría de los estudios realizados para determinar los requerimientos de minerales se han realizado en condiciones de medio ambiente ideales con pollos que están sujetos a un estrés mínimo.

De acuerdo a los resultados obtenidos en este estudio, se deduce que es posible reducir los niveles de inclusión de Zn en la dieta utilizados normalmente si se consideran los aportes de la dieta basal bajo ciertos rangos de seguridad. La utilización de fuentes minerales que demuestren tener una mayor biodisponibilidad podría ser otra forma de reducir los niveles de inclusión de Zn.

## Conclusiones

El requerimiento de 40 mg/kg de Zn en el alimento recomendado por el NRC (1994) es suficiente para lograr una máxima respuesta en parámetros productivos en pollos de engorda hasta el día 21 de edad.

La adición de Zn en forma de  $\text{Zn(HMTBa)}_2$  o como  $\text{ZnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$  no promueve un mayor crecimiento en pollitos hasta el día 21 de edad cuando la dieta basal contiene 45 mg/kg de Zn. La productividad de pollos de engorda no se ve mejorada cuando a una dieta suplementada con sulfato de Zn se añaden 40, 80 mg/kg de Zn como  $\text{Zn(HMTBa)}_2$  o la combinación de Zn, Cu y Mn (40, 20, 40 mg/kg) en forma quelada con HMTBa

El  $\text{Zn(HMTBa)}_2$  no muestra una mayor biodisponibilidad en comparación con sulfato de Zn al utilizar una dieta basal que contiene 45 mg/kg de Zn, tomando en consideración la concentración de Zn en hueso. La excreción de Zn incrementa a medida que aumenta la cantidad del Zn en la dieta.

La inmunidad celular se ve mejorada con la adición de  $\text{Zn(HMTBa)}$  en relación al  $\text{ZnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ , la respuesta humoral de igual manera presenta tendencia a una mayor respuesta. La adición de la combinación de Zn, Cu, Mn en forma quelada con HMTBa a una dieta suplementada con Zn, induce una mayor respuesta en el título de anticuerpos.

La adición de la combinación de 40, 20, 40 mg/kg de Zn, Cu, y Mn respectivamente en forma quelada con HMTBa tiene un efecto favorable en la integridad de la piel, lo cual tiene importancia desde el punto de vista económico debido a la cantidad de pollos que son decomisados por lesiones en las plantas de procesamiento.

## 8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AAFCO 1998. Official Publication of the Association of American Feed Control Officials Incorporated (Paul. M. Bachman, Ed.) pp. 237-238.

Andreini C., Banci L., Bertini I., Rosato A. Counting the zinc-proteins encoded in the human genome. *J. Proteome Res.* 2006; 5:196–201.

Ao T., Pirce J. Investigation of relative bioavailability values and requirement for Bioplex organic zinc broiler chicks. *Nutritional Biotechnology in Feed Industries: Proceedings of Alltech's 22nd Annual Symposium* (Lyons T.P., Jacques K.A. and Hower J.M., eds). Nottingham University Press, UK, 2006.

Ashmead H.D., Zuninho H. in: Ashmead, H.D. DeWaine H (Eds.) *The roles of amino acid chelates in animal nutrition*, Moyes Publ., Park Ridge, NJ, 1993; pp. 21–40.

Baker D.H., Ammerman C.B. Zinc bioavailability. In: Ammerman, C.B., Baker, D.H. and Lewis, A.J. (Eds) *Bioavailability of nutrients for animals*. Academic Press, San Diego, (1995). pp. 367-398.

Batal A.B., Parr T.M., Baker, D.H. Zinc bioavailability in tetrabasic zinc chloride and dietary zinc requirement of young chicks fed a soy concentrate diet. *Poultry Science* 2001; 80: 87-90.

Beach R.S., Gershwin M.E., Hurley L.S. Reversibility of developmental retardation following murine fetal zinc deprivation. *J. Nutr.* 1982; 112:1169-1181.

Blasie C.A., Berg J.M. Structure-based thermodynamic analysis of a coupled metal binding-protein folding reaction involving a Zinc Finger Peptide. *Biochemistry* 2002; 41:15068–15073.

Burrell A.L., Dozier W.A., Davis A.J., Compton M.M., Freeman M.E., Vendrell P.F., Ward T.L. Responses of broilers to dietary zinc concentrations and sources in relation to environmental implications. *British Poultry Science* 2004; 45:255–263.

Cao J., Henry P.R., Guo, R., Holwerda R.A., Toth J.P., Littell R.C., Miles R.D., Ammerman C.B. Chemical characteristics and relative bioavailability of supplemental organic zinc sources for poultry and ruminants. *J. Anim. Sci.* 2000; 78:2039–2054.

Cao J., Henry P.R., Davis S.R., Cousins R.J., Miles R.D., Littell R.C., Ammerman C.B. Relative bioavailability of organic zinc sources based on tissue zinc and

metallothionein in chicks fed conventional dietary zinc concentrations. *Animal Feed Science and Technology* 2002; 101:161–170.

Castro C.E., Sevall J.S. Zinc deficiency, chromatin structure, and gene expression, in *Nutrient Modulation of the Immune Response*, Cunningham-rundles S. ed., Marcel Dekker, 1993, New York. pp. 141-150.

Chesters J.K., Arthur J.R. Early biochemical defects caused by dietary trace element deficiencies. *Nutrition Research Reviews* 1988; 1, 39-56.

Chesters J.K. Trace elements and gene expression. *Nutrition Reviews* 1992; 50: 217-223.

Cook-Mills J.M., Fraker P.J. The role of metals in the production of toxic oxygen metabolites by mononuclear phagocytes. In: *Nutrient Modulation of the Immune Response* (Ed. Cunningham-Rundles, S.) Marcel Dekker Inc, New York 1993, pp. 127-140.

Corrier D.E., DeLoach J.R. Evaluation of cell-mediated, cutaneous basophil hypersensitivity in young chickens by an interdigital skin test. *Poultry Science* 1990; 69:403-408.

Cousins R. J. Absorption, transport and hepatic metabolism of copper and zinc: special reference to metallothionein and ceruloplasmin. *Physiol. Rev.* 1985; 65:238–309.

Cousins R.J., Liuzzi J.P., Lichten L.A. Mammalian zinc transport, trafficking, and signals. *The Journal of Biological Chemistry.* 2006; 281(34):24085-24089.

Dameron C.T., Harris E.D. Regulation of aortic CuZn-superoxide dismutase with copper: Effects in vivo. *Biochemistry Journal* 1987; 248:663-668.

Dardenne M., Savino W., Borrih S., Bach J.F. A zinc dependent epitope of the molecule of thymulin, a thymic hormone. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 1985; 82:7035-7038.

Dardenne M., Bach J.M. Rationale for the mechanism of zinc interaction in the immune system, in *Nutrient Modulation of the Immune Response*, S. Cunningham-Rundles, ed. Marcel Dekker, New York. 1993, pp. 501-509.

Dibner J.J., Richards J.D., Kitchell M.L., Quiroz M.A. Metabolic challenges and early bone development. *J. Appl. Poult. Res.* 2007; 16:126–137.

Dieck H.T., Doring F., Roth H.P., Daniel H. Changes in rat hepatic gene expression in response to zinc deficiency as assessed by DNA arrays. *J. Nutr.* 2003; 133:1004–1010.

Dozier W.A., Davies A.J., Freeman M.E., Ward T.L. Early growth and environmental implications of dietary zinc and copper concentrations and sources of broiler chicks. *British Poultry Science* 2003; 44(5):726-731.

Dowd P.S., Kelleher J., Guillou P.J. T-lymphocyte subsets and interleukin-2 production in zinc-deficient rats. *Br. J. Nutr.* 1986; 55:59–69.

Dufner-Beattie J., Wang F., Kuo Y. M., Gitschier J., Eide D., Andrews G. K. The acrodermatitis enteropathica Gene *ZIP4* Encodes a Tissue-specific, Zinc-regulated Zinc Transporter in Mice. *J. Biol. Chem.* 2003; 278:33474–33481.

Ekstrand C., Algers B., Svedberg J. Rearing conditions and foot-pad dermatitis in Swedish broiler chickens. *Preventive Veterinary Medicine* 1997; 31:167-174.

Emmert J.L., Baker D.H. Zinc stores in chickens delay the onset of zinc deficiency symptoms. *Poultry Science* 1995; 74: 1011-1021.

Fernandez G., Madvhavan N., Kazunori O., Tanaka T., Floyd R., Good R.A. Impairment of cell-mediated immunity functions by dietary zinc deficiency in mice. *Proceedings of New York Academy of Sciences*, 1979; 76: 457-461.

Folk J.E. Carboxipeptidase B, in *The Enzymes*, Vol. III Hydrolysis: Peptide Bonds, Boyer, ed., academic, New York, 1971, pp. 57-79.

Franz K.B., Kennedy B.M., Fellers D.A. Relative bioavailability of zinc from selected cereals and legumes using rat growth. *Journal of Nutrition* 1980; 110:2272-2283.

Gaither L.A., Eide D.J. Eukaryotic zinc transporters and their regulation *Biometals* 2001; 14:251–270.

Giordano P.M., Mortvedt J.J., Mays D.A. Effect of municipal wastes on crop yields and uptake of heavy metals. *Journal of Environmental Quality*, 1975; 4: 394-399.

Greene J.A., Mc Cracken R.M., Evans R.T. A contact dermatitis of broilers clinical and pathological findings. *Avian Pathology* 1985; 14: 23-38.

Gross A.M., Prohasika J.R. Copper-deficient mice have higher cardiac epinephric turnover. *Journal of Nutrition* 1990; 120:88-96.

Harland B.F., Spivey Fox M.R., Fry B.E. Protection against zinc deficiency by prior excess dietary zinc in young Japanese quail. *Journal of Nutrition* 1975;105:1509-1518.

Hartsuck J.A., Lipscomb W.N. Carboxipeptidase A, in *The Enzymes*, Vol. III, Hydrolysis: Peptide Bonds, Boyer P.D., Academic, New York, 1971, pp. 1-56.

Henry P.R., Ammerman C.B., Miles R.D. Relative bioavailability of manganese-methionine complex for broiler chicks. *Poult. Sci.* 1989; 68, 107–112.

Holwerda R.A., Albin R. C., Madsen F. C. Chelation effectiveness of zinc proteinates demonstrated. *Feedstuffs* 1995; 67(25):12–23.

Huang L., Kirschke C.P., Zhang Y., Yu Y.Y. The *ZIP7* Gene (*Slc39a7*) Encodes a Zinc Transporter Involved in Zinc Homeostasis of the Golgi Apparatus. *J. Biol. Chem.* 2005; 280:15456–15463.

Huang Y.L. Ku L., Luo X.G., Liu B. An optimal dietary zinc level of broiler chicks fed a corn-soybean meal diet. *Poultry Science* 2007; 86:2582-2589.

Hudson B. P., Fairchild B. D., Wilson J. L., Dozier W. A., Buhr R. J. Breeder Age and Zinc Source in Broiler Breeder Hen Diets on Progeny Characteristics at Hatching. *Journal of Applied Poultry Research* 2004; 13:55-64.

Kidd M.T., Anthony N.B., Lee S.R. Progeny performance when dams and chicks are fed supplemental zinc. *Poultry Science* 1992; 71:1201–1206.

Kidd M.T., Anthony N.B., Newberry L.A., Lee S.R. Effect of supplemental zinc in either a corn-soybean or a milo and corn-soybean meal diet on the performance of young broiler breeders and their progeny. *Poultry Science* 1993; 72:1492-1499.

Kidd M.T., Ferket P.R., Qureshi M.A. Zinc metabolism with special reference to its role in immunity. *World's Poult. Sci. J.* 1996; 52:309–324.

Kidd M.T., Qureshi M.A., Ferket P.R., Thomas L.N. Turkey hen zinc source affects progeny immunity and disease resistance. *J. Appl. Poultry Res.* 2000; 9:414-423.

Kidd M.T. Nutritional modulation of immune function in broilers. *Poultry Science* 2004; 83:650–657.

Kratzer F.H., Vohra P. *Chelates in Nutrition*, CRC Press Inc., Boca Raton, FL, 1986.

Kristensen H.H., Perry G.C., Prescott N.B., Ladewig J., Ersboll A.K., Wathes C.M. Leg health and performance of broiler chickens reared in different light environments. *British Poultry Science* 2006; 47(3): 257-263.

Leach R.M. The role of trace elements in the development of cartilage matrix. In Lonnerdal, B. and Rucker, R.B. (Eds) *Trace elements in Man and Animals-6*. Plenum. New York, (1988) pp. 267-271.

Leach R.M., Harris E.D. Manganese. In: O'Dell. B.L. and Sunde, R.A. (Eds) *Handbook of Nutritionally Essential Mineral Elements*. Marcel Dekker, New York, 1997, pp. 335-356.

Lenaers-Claeys G., Vaes G. Collagenase, procollagenase and bone resorption effects of heparin, parathyroid hormone and calcitonin. *Biochim. Biophys.* 1979; 584:375-388.

Leeson S., Summers J. D. *Scott's Nutrition of the Chicken*. 4<sup>th</sup> Ed. 2001, University Books, Guelph, Ontario.

Leeson S, Summers JD: Feeding programs for broiler chickens. In Leeson S, Summers JD editors: *Commercial Poultry Nutrition*, 3<sup>rd</sup> edition, Guelph, Ontario, Canada, 2005, p. 287.

Leeson S., Caston L. Using minimal supplements of trace minerals as a method of reducing trace mineral content of poultry manure. *Animal Feed Science and Technology* 2008; 142:339-347.

Liu A.C.H., Heinrichs B.S., Leach R.M. Influence of manganese deficiency on the characteristics of proteoglycans of avian epiphyseal growth plate cartilage. *Poultry science* 1994; 73:663-669.

Liuzzi J.P., Blanchard R.K., Cousins R.J. Differential regulation of zinc transporter 1, 2, and 4 mRNA Expression by Dietary Zinc in Rats. *J. Nutr.* 2001; 131:46–52.

Liuzzi J.P., Cousins R.J. Mammalian zinc transporters. *Annu. Rev. Nutr.* 2004; 24:151–172.

Liuzzi J. P., Bobo J.A., Lichten L.A., Samuelson D.A., Cousins R.J. Responsive transporter genes within the murine intestinal pancreatic axis form a basis of zinc homeostasis. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 2004; 101:14355–14360.

McCord J.M., Keele B.B., Fridovich I. An enzyme-based theory of obligate anaerobiosis: the physiological function of superoxido dismutasa, *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 1971; 68:1024-1027.

McMahon R.J., Cousins R.J. Regulation of the zinc transporter ZnT-1 by dietary zinc. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 1998; 95:4841–4846.

Mohanna C., Nys Y. Effect of dietary zinc content and sources on the growth, body zinc deposition and retention, zinc excretion and immune response in chickens *British Poultry Science*, 1999a; 40:108–114.

Mohanna C., Nys Y. Incidence of dietary viscosity on growth performance and zinc and manganese bioavailability in broilers. *Animal Feed Science and Technology* 1999b; 77:255-266.

Mulhern S.A., Koller L.D. Sever or marginal copper deficiency results in a graded reduction of immune status in mice. *Journal of Nutrition* 1988; 118:1041-1047.

Nelson D.L., Cox M.M. *Lehninger's Principles of Biochemistry* 4<sup>th</sup> Edition. Macmillan UK, Worth Publishers, USA 2004, p12-13.

Nielsen F.H., Sunde M.L., Hoekstra W.G. Effect of dietary amino acid source on the zinc-deficiency syndrome in the chick. *J. Nutr.* 1966; 89, 24-34.

Nollet L., van der Klis J.D., Lensing M., Spring P. The Effect of replacing inorganic with organic trace minerals in broiler diets on Productive Performance and Mineral Excretion. *J. Appl. Poult. Res.* 2007; 16:592–597.

NRC. *Nutrient requirements of poultry* (9th Ed). National Academy Press, Washington DC. 1994.

Oberleas D., Muhrer M.E., O'Dell B.L. Effects of phytic acid on zinc availability and parakeratosis in swine. *J. Anim. Sci.* 1962; 21:57–61.

Oberleas D., Muhrer M.E., O'Dell B.L. Dietary metal-complexing agents and zinc availability in the rat. *J. Nutr.* 1966; 90:56–62.

O'Dell B.L., Savage J.E. Effect of phytic acid on zinc availability. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 1960; 103:304–306.

O'Dell B., Hartwick B., Reynolds G., Savage J. Connective tissue defect in the chick resulting from copper deficiency. *Proceedings of the society for experimental and biological medicine* 1961; 108:402-405.

O'Dell B.L. Zinc plays both structural and catalytic roles in metalloproteins. *Nutrition Reviews* 1992; 50:48-50.

Ohki K. Zinc nutrition related to critical deficiency and toxicity levels for sorghum. *Agronomy Journal* 1984; 76:253-256.

Österberg R. Metal ion-protein interactions in solution, in *Metal Ions in Biological Systems*, Vol 3. High Molecular Complexes, H. Sigel, ed., Marcel Dekker, New York, 1983; pp.45-88.

Palmiter R. D., Huang L. Efflux and compartmentalization of zinc by members of the SLC30 family of solute carriers. *Eur. J. Physiol.* 2004; 447:744–751.

Pardo A., Selman M. MMP-1: the elder of the family. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 2005; 37:283-288.

Park S.Y., Birkhold S.G., Kubena L.F., Nisbet D.J., Ricke S.C. Review on the role of dietary zinc in poultry nutrition, immunity, and reproduction. *Biological Trace Element Research* 2004; 101:147-163.

Pastore P., Gallina A., Lucaferro P., Magno F. Cu(ii)-amino acid and Cu(ii)-peptide chelates in animal feeding: a semi-quantitative approach to characterize the commercial products and the limits of their structural integrity. *Analyst* 1999; 124:837–842.

Pimentel J.L., Cook M.E., Greger J.L. Immune response of chicks fed various levels of zinc. *Poultry Science* 1991a; 70:947–954.

Pimentel J.L., Cook M.E., Greger J.L. Research Note: Bioavailability of zinc-methionine for chicks. *Poultry Science* 1991b; 70:1637–1639.

Power R., Horgan K. Biological chemistry and absorption of inorganic and organic trace metals. *Biotechnology in the Feed Industry: Proceedings of Alltech's 16<sup>th</sup> Annual Symposium* (T.P. Lyons and K.A. Jacques, eds). Nottingham University Press, UK, 2000; 277-291.

Prasad A.S. Zinc deficiency in humans subjects. In: *Clinical, Biochemical, and Nutritional Aspects of Trace Elements* (Ed. Prasad, A.S.) Alan R. Liss Inc, New York, 1982, pp3-62.

Predieri G., Tegoni M., Cinti E., Leonardi G., Ferruzza S. Metal chelates of 2-hydroxy-4-methylthiobutanoic acid in animal feeding: preliminary investigations on stability and bioavailability. *Journal of Inorganic Biochemistry* 2003; 95:221-224.

Prohaska J.R., Bailey W.R. Alterations of rat peptidylglycine  $\alpha$ -amidating monooxygenase and other cuproenzyme activities following perinatal copper deficiency. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine* 1995; 210:107-116.

Ramshaw J.A.M., Rigby B.J., Mitchell T.W., Nienss A. Changes in the physical and chemical properties of skin collagen from broiler chickens exhibiting oily bird syndrome *Poultry Sci.* 1986; 64:43-50.

Ravindran V., Bryden W.L., Kornegay E. T. Phytates: occurrence, bioavailability and implications in poultry nutrition. *Poult. Avian Biol.* 1995; Rev. 6:125–143.

Reddy N.R., Balakrishnan C.V., Salunkhe D.K. Phytase in legumes. *Adv. Food Res.* 1982; 28:1-92.

Rogers E.E., Eide D.J., Guerinot M.L. Altered selectivity in an Arabidopsis metal transporter. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 2000; 97:12356–12360.

Rossi P., Rutz F., Anciuti M.A., Rech J.L., Zauk N.H.F. Influence of graded levels of organic zinc on growth performance and carcass traits of broilers. *J. Appl. Poult. Res.* 2007; 16:219–225.

Rucker R.B., Kosonen T., Clegg M.S., Mitchell A.E., Rucker B.R., Uriu-Hare J.Y., Keen C.L. Copper, lysyl oxidase, and extracellular matrix protein cross-linking. *American Journal of Clinical nutrition* 1998; 67 (suppl) 996S-1002S.

Saenko E.I., Yaroplov A.I., Harris E.D. Biological functions of ceruloplasmin expressed through copper-binding sites. *Journal of Trace Elements in Experimental medicine* 1994; 7:69-88.

Sandoval M., Henry P.R., Ammerman C.B., Miles R.D., Littell R.C. Relative bioavailability of supplemental inorganic zinc sources for chicks. *J. Anim. Sci.* 1997; 75:3195-3205.

Sandoval M., Henry P.R., Luo X.G., Littell R.C., Miles R.D., Ammerman C.B. Performance and tissue zinc and metallothionein accumulation in chicks fed a high dietary level of zinc. *Poult. Sci.*, 1998; 77:1354–1363.

Sandoval M., Henry P.R., Littell R.C., Miles R.D., Butcher G.D., Ammerman C.B. Effect of dietary zinc source and method of oral administration on performance and tissue trace mineral concentration of broiler chicks. *J. Anim. Sci.* 1999; 77:1788–1799.

Savage J.E., O 'Dell B.L. The requirement of poultry for zinc. *World's Poultry Science Journal* 1959; 15:264-276.

Schuschke D.A., Saari J.T., West C.A., Miller F.N. Dietary copper deficiency increases the mast cell population of the rat. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine* 1994; 207:274-277.

Seltzer J.L., Jeffrey J.J., Eisen A.Z. Evidence for mammalian collagenases as zinc ion metalloenzymes. *Biochem. Biophys. Acta* 1977; 485:179-187.

Shelton J.L., Southern L.L. Interactive effects of zinc, copper and manganese in diets for broilers. *International Journal of Poultry Science* 2007; 6(7): 466-469.

Spears J.W. Zinc-methionine for ruminants: relative bioavailability of zinc in lambs and effects of growth and performance of growing heifers. *J. Anim. Sci.* 1989; 67:835-843.

Stahl J.L., Cook M.E., Sunde M.L., Greger J.L. Enhanced humoral immunity in progeny chicks from hens fed practical diets supplemented with zinc. *Applied Agricultural Research* 1989; 4:86-89.

Starcher B.C., Hill C.H., Madaras J.G. Effect of zinc deficiency on bone collagenase and collagen turnover. *J. Nutr.* 1980; 110:2095-2102.

Suttle N.F., Lloyd-Davies H., Field A.C. A model for zinc metabolism in sheep given a diet of hay. *British Journal of Nutrition* 1982; 47:105-112.

Suzuki T., Ishihara K., Migaki H., Ishihara K., Nagao M., Yamaguchi-Iwai Y., Kambe T. Two Different Zinc Transport complexes of cation diffusion facilitator proteins Localized in the Secretory Pathway Operate to Activate Alkaline Phosphatases in Vertebrate Cells. *J. Biol. Chem.* 2005; 280:30956-30962.

Tako E., Ferket P.R., Uni Z. Changes in chicken intestinal zinc exporter mRNA expression and small intestinal functionality following intra-amniotic zinc-methionine administration. *Journal of Nutritional Biochemistry* 2005;16:339-346.

Taylor K. M. LIV-1 Breast cancer protein belongs to new family of histidine-rich membrane proteins with potential to control intracellular Zn<sup>2+</sup> homeostasis. *IUBMB Life* 2000; 49:4, pp. 249-253(5).

Underwood E.J. *The mineral Nutrition of Livestock*, 2<sup>nd</sup> ed. Commonwealth Agricultural Bureaux, Farnham Royal, UK, 1981, p. 1.

Underwood E.J., Suttle N.F. *The mineral Nutrition of livestock*. CABI Publishing, London, UK. 2001.

Vallee B.L., Auld D.S. Active-site zinc ligands and activated H<sub>2</sub>O of zinc enzymes. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 1990a; 87:220-224.

Vallee B.L., Auld D.S. Zinc coordination, function, and structure of zinc enzymes and other proteins. *Biochemistry* 1990b; 29(24):5647-59.

- Valle B.L., Galdes A. The metallobiochemistry of zinc enzymes. In: *Advances in Enzymology* (Ed. Meister, A.), John Wiley and Sons, New York 1984, pp. 283-429.
- VonWartburg J.P., Bethune J.L., Vallee B.L. Human liver-alcohol dehydrogenase, *Proc. Nat. Sci. USA*, 1964; 57:1434-1440.
- Wang F., Kim B.E., Petris M.J., Eide D.J. The Mammalian Zip5 Protein Is a Zinc Transporter That Localizes to the Basolateral Surface of Polarized Cells. *J. Biol. Chem.* 2004; 279:51433–51441.
- Wedekind K.J., Baker D.H. Zinc bioavailability in feed-grade sources of zinc. *J. Anim. Sci.* 1990; 68:684-689.
- Wedekind K.J., Hortin A.E., Baker D.H. Methodology for assessing zinc bioavailability: efficacy estimates for zinc–methionine, zinc sulfate, and zinc oxide. *J. Anim. Sci.* 1992; 70:178–187.
- Wedekind K.J., Collings G., Hancock J., Titgemeyer E. The bioavailability of zinc-methionine relative to zinc sulphate is affected by calcium level. *Poultry Science* 1994a; 73 (suppl. 1), 114.
- Wedekind K.J., Lewis A.J., Giesemann M.A., Miller P.S. Bioavailability of zinc from inorganic and organic sources for pigs fed corn-soybean meal diets. *Journal of Animal Science* 1994b; 72:2681-2689.
- Weigand E., Kirchgessner M. Homeostatic adjustments in zinc digestion to widely varying zinc intake. *Nutrition and metabolism* 1978; 22:101-112.
- Wirth J.J., Fraker P.J., Kierszenbaum F. Zinc requirement for macrophage function: effect on zinc deficiency on uptake and killing of a protozoan parasite. *Immunology* 1989; 68: 114-119.
- Young R.J., Edwards H.M., Gillis M.B. Studies on zinc in poultry nutrition. Zinc requirement and deficiency symptoms of chicks. *Poult. Sci.* 1958; 37:1100–1107.
- Yu Y., Lu L., Luo X.G., Liu B. Kinetics of zinc absorption by in situ ligated intestinal loops of broilers involved in zinc transporters. *Poult. Sci.* 2008; 87:1146-1155.
- Zanetti M.A., Henry P.R., Ammerman C.B., Miles R.D. 1991. Estimation of the relative bioavailability of copper sources in chicks fed on conventional dietary amounts. *Br. Poult. Sci.* 1991; 32:583–588.

<b>Cuadro 1 Metaloenzimas importantes en los animales</b>		
Mineral	Enzimas	Función
Hierro	Succinato deshidrogenasa Citocromo a, b y c Catalasa	Oxidación aerobia de carbohidratos Transferencia de electrones Protección frente a H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>
Cobre	Citocromo oxidasa Lisil oxidasa Ceruloplasmina Superóxido dismutasa	Oxidasa Terminal Oxidación de lisina Utilización de hierro: transporte de cobre Dismutación del radical superóxido O <sub>2</sub> <sup>-</sup>
Zinc	Anhidrasa carbónica Alcohol deshidrogenasa Carboxipeptidasa A, B Fosfatasa alcalina Polimerasa nuclear Poli (A) Colagenasa	Formación de CO <sub>2</sub> Metabolismo del alcohol Digestión de proteínas Hidrólisis de esteres de fosfato Replicación celular Reparación tisular
Manganeso	Piruvato carboxilasa Superóxido dismutasa Glicosil-aminotransferasa	Metabolismo del piruvato Antioxidante por destrucción de O <sub>2</sub> <sup>-</sup> Síntesis de proteoglicanos
Molibdeno	Xantina deshidrogenasa Sulfito oxidasa Aldehído oxidasa	Metabolismo de las purinas Oxidación del sulfito Metabolismo de las purinas
Selenio	Glutación peroxidasa Deiodinasas I y II	Destrucción de H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> e hidroperóxido Conversión de la forma activada de la tiroxina

Underwood y Suttle (2001).

Cuadro 2. Ejemplos de metaloenzimas que contienen zinc y sus funciones.		
Clase de enzima	Funciones	Enzimas
Oxidoreductasa	Catálisis de reacciones de oxido-reducción entre dos sustratos	Alcohol deshidrogenasa Superóxido dismutasa Malato deshidrogenasa Lactato deshidrogenasa
Transferasa	Catálisis de la transferencia de un grupo diferente al oxígeno	RNA polimerasa DNA polimerasa Transcriptasa reversa
Hidrolasa	Catálisis de la hidrólisis de enlaces de esteres, éter, péptidos, glicosil, ácido anhídrido, C-C, C-haluro o P-N	Fosfatasa alcalina Carboxipeptidasa A,B Colagenasa
Liasa	Adición de grupos a dobles enlaces, o formación de dobles enlaces por la remoción de grupos por mecanismos distintos de la hidrólisis	Anhidrasa carbónica
Isomerasa	Catalizan la interconversión óptica, geométrica o posicional de isómeros	Fosfomanosa Isomerasas
Ligasa	Formación de enlaces C-C, C-S, C-O y C-N por reacciones de condensación acopladas a la ruptura de ATP	RNA sintetasa

Kidd *et al.*, (1996)

**Cuadro 3. Niveles de inclusión de Zn añadidos a la dieta basal del experimento 1.**

<b>Fuente de Zinc</b>	<b>Zn (mg/kg)</b>
Sin	0
ZnSO <sub>4</sub> ·H <sub>2</sub> O	25
ZnSO <sub>4</sub> ·H <sub>2</sub> O	50
ZnSO <sub>4</sub> ·H <sub>2</sub> O	75
ZnSO <sub>4</sub> ·H <sub>2</sub> O	100
Zn(HMTBa) <sub>2</sub>	25
Zn(HMTBa) <sub>2</sub>	50
Zn(HMTBa) <sub>2</sub>	75
Zn(HMTBa) <sub>2</sub>	100

**Cuadro 4. Composición de la dieta basal para pollos de 1 a 21 días de edad en el Experimento 1**

<b>Ingrediente</b>	<b>Kg/ton</b>
Maíz amarillo	503.26
Pasta de soya (48%)	415.20
Aceite	34.19
Ortofosfato	18.58
Carbonato de calcio	15.55
Sal (NaCl)	4.12
Alimet 88%	3.51
L-Lisina HCL	1.97
Cloruro de colina	1.00
Premezcla de vitaminas <sup>1</sup>	1.00
Premezcla mineral <sup>2</sup>	0.50
Azúcar + zinc <sup>3</sup>	0.50
Bacitracina	0.30
L-Treonina	0.26
Antioxidante <sup>4</sup>	0.05
Total	100
Análisis calculado	
EM (MC/Kg)	3.010
Proteína cruda (%)	24.00
Cálcio total (%)	1.000
Fósforo disp	0.500
Metionina + Cistina (%)	1.061
Metionina (%)	0.666
Lisina (%)	1.459
Colina (mg/kg)	1924.77
Treonina (%)	0.966
Zn (mg/kg) <sup>5</sup>	45

<sup>1</sup> Premezcla de vitaminas. Aporte por tonelada de alimento: vitamina A, 12 000 000 UI; vitamina D<sub>3</sub>, 2 500 000 UI; vitamina E, 15 000 UI; vitamina K, 2g; tiamina (vit B1) 2.25g; riboflavina (vit B2) 7.5g; piridoxina (vit B6), 3.5g; cianocobalamina (B12) 20mg; ácido fólico, 1.5g; biotina 125mg; ac. pantoténico, 12.5g; niacina 45g.

<sup>2</sup> Premezcla mineral. Aporte en ppm: Cu, 8 como CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O; Mn, 100 como MnO; Fe, 80 como FeSO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O; I, 1 como E.D.I.; Se, 0.15 como Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub>.

<sup>3</sup> zinc adicionado a expensas de azúcar.

<sup>4</sup> IQ

<sup>5</sup> Determinado por análisis.

Cuadro 5. Peso corporal, consumo de alimento y conversión alimenticia a la primera semana de edad. Experimento 1.									
PESO (g)			CONSUMO/POLLO (g)			CONVERSION			
Nivel (mg/kg)	ZnSO <sub>4</sub> ·H <sub>2</sub> O	Zn(HMTBa) <sub>2</sub>	Media	ZnSO <sub>4</sub> ·H <sub>2</sub> O	Zn(HMTBa) <sub>2</sub>	Media	ZnSO <sub>4</sub> ·H <sub>2</sub> O	Zn(HMTBa) <sub>2</sub>	Media
0	168.0	168.0	168.0	139.2	139.2	139.2	0.819	0.812	0.812
25	161.0	170.7	165.9	130.9	142.9	136.9	0.806	0.838	0.822
50	165.7	162.3	164.0	134.4	128.7	131.6	0.811	0.792	0.801
75	161.7	173.8	168.0	129.2	139.9	134.5	0.802	0.804	0.803
100	161.6	172.8	167.2	128.3	136.5	132.4	0.793	0.791	0.792
Media	162.5	170.0		130.7	137.0		0.803	0.806	
Fuente (p)	0.116			0.312			0.847		
Nivel (p)	0.955			0.924			0.900		
F X N (p)	0.685			0.708			0.895		

Cuadro 6. Peso corporal, consumo de alimento y conversión alimenticia a la segunda semana de edad. Experimento 1.									
PESO (g)			CONSUMO/POLLO (g)			CONVERSION			
Nivel (mg/kg)	ZnSO <sub>4</sub> ·H <sub>2</sub> O	Zn(HMTBa) <sub>2</sub>	Media	ZnSO <sub>4</sub> ·H <sub>2</sub> O	Zn(HMTBa) <sub>2</sub>	MEDIA	ZnSO <sub>4</sub> ·H <sub>2</sub> O	Zn(HMTBa) <sub>2</sub>	Media
0	409.3	409.3	409.3	567.9	567.9	567.9	1.395	1.395	1.395
25	396.8	411.6	404.2	554.0	528.1	541.0	1.380	1.328	1.354
50	414.1	397.8	406.0	556.6	537.4	547.0	1.346	1.355	1.350
75	403.8	414.2	411.6	547.4	560.5	553.9	1.398	1.354	1.376
100	405.6	395.1	399.9	532.0	518.3	525.1	1.320	1.311	1.315
Media	405.8	404.6		547.5	536.1		1.361	1.337	
Fuente (p)	0.911			0.885			0.723		
Nivel (p)	0.955			0.661			0.939		
F X N (p)	0.693			0.947			0.985		

**Cuadro 7. Peso corporal, consumo de alimento y conversión alimenticia en la tercera semana de edad. Experimento 1.**

Nivel (mg/kg)	PESO (g)			CONSUMO/POLLO (kg)			CONVERSION		
	ZnSO <sub>4</sub> ·H <sub>2</sub> O	Zn(HMTBa) <sub>2</sub>	MEDIA	ZnSO <sub>4</sub> ·H <sub>2</sub> O	Zn(HMTBa) <sub>2</sub>	MEDIA	ZnSO <sub>4</sub> ·H <sub>2</sub> O	Zn(HMTBa) <sub>2</sub>	MEDIA
<b>0</b>	851.6	851.6	851.6	1.233	1.233	1.233	1.45	1.45	1.45
<b>25</b>	836.5	837.8	837.2	1.198	1.200	1.203	1.43	1.48	1.46
<b>50</b>	842.0	820.6	831.3	1.173	1.237	1.205	1.39	1.46	1.43
<b>75</b>	819.8	860.8	840.3	1.176	1.255	1.215	1.44	1.46	1.45
<b>100</b>	836.8	845.2	840.9	1.107	1.176	1.142	1.33	1.36	1.35
<b>Media</b>	833.7	841.1		1.163	1.219		1.40	1.44	
<b>Fuente (p)</b>	0.687			0.196			0.371		
<b>Nivel (p)</b>	0.980			0.652			0.432		
<b>F X N (p)</b>	0.665			0.925			0.980		

**Cuadro 8. Mortalidad en pollitos al día 21 de edad. Experimento 1.**

Nivel Zn (mg/kg)	0	25	50	75	100	
ZnSO <sub>4</sub> ·H <sub>2</sub> O	1	2	1	1	1	<b>TOTAL</b>
Zn(HMTBa) <sub>2</sub>	1	1	4	1	1	14

<b>Cuadro 9. Porcentaje de cenizas en hueso al día 21 de edad (base seca). Experimento 1.</b>			
<b>Nivel (mg/kg)</b>	<b>ZnSO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O</b>	<b>Zn(HMTBa)<sub>2</sub></b>	<b>MEDIA</b>
<b>0</b>	48.3	48.3	48.3
<b>25</b>	48.5	48.8	48.7
<b>50</b>	49.8	48.5	49.2
<b>75</b>	49.0	48.9	48.9
<b>100</b>	49.5	48.6	49.1
<b>Media</b>	49.2	48.7	
<b>Fuente (p)</b>	0.28		
<b>Nivel (p)</b>	0.83		
<b>F X N (p)</b>	0.52		

<b>Cuadro 10. mg/kg de Zn en hueso al día 21 de edad (base seca). Experimento 1.</b>			
<b>Nivel (mg/kg)</b>	<b>ZnSO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O</b>	<b>Zn(HMTBa)<sub>2</sub></b>	<b>MEDIA</b>
<b>0</b>	219.2	219.2	219.2
<b>25</b>	210.7	205.5	208.1
<b>50</b>	212.3	161.1	186.7
<b>75</b>	234.5	202.1	218.3
<b>100</b>	215.9	221.0	218.5
<b>Media</b>	218.4	197.4	
<b>Fuente (p)</b>	0.13		
<b>Nivel (p)</b>	0.30		
<b>F X N (p)</b>	0.44		

<b>Cuadro 11. Porcentaje de cenizas en heces en el día 20 de edad (base húmeda). Experimento 1.</b>			
<b>Nivel (mg/kg)</b>	<b>ZnSO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O</b>	<b>Zn(HMTBa)<sub>2</sub></b>	<b>MEDIA</b>
<b>0</b>	3.5	3.5	3.5
<b>25</b>	3.8	3.8	3.8
<b>50</b>	3.8	4.0	3.9
<b>75</b>	3.6	3.9	3.7
<b>100</b>	3.9	3.6	3.7
<b>Media</b>	3.8	3.8	
<b>Fuente (p)</b>	0.64		
<b>Nivel (p)</b>	0.84		
<b>F X N (p)</b>	0.61		

<b>Cuadro 12. Concentración de zinc en heces (mg/kg) en el día 20 de edad. Experimento 1.</b>			
<b>Nivel (mg/kg)</b>	<b>ZnSO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O</b>	<b>Zn(HMTBa)<sub>2</sub></b>	<b>MEDIA</b>
<b>0</b>	75.2a	75.2a	75.2
<b>25</b>	57.2a	124.2b	90.7
<b>50</b>	100.0a	131.9b	115.9
<b>75</b>	103.8a	124.1a	114.4
<b>100</b>	139.8a	142.3a	141.1
<b>Media</b>	100.2	130.9	
<b>Fuente (p)</b>	<.0001		
<b>Nivel (p)</b>	<.0001		
<b>F X N (p)</b>	0.007		

Cifras con letras diferentes en los niveles de inclusión indican diferencias estadísticas significativas de las fuentes en ese nivel (P<0.05)

**Cuadro 13. Respuesta a la prueba de hipersensibilidad cutánea basófila retardada al día 14 de edad (respuesta en mm). Experimento 1.**

Nivel (mg/kg)	ZnSO <sub>4</sub> ·H <sub>2</sub> O	Zn (HMTBa) <sub>2</sub>	MEDIA
0	0.054a	0.054a	0.054a
25	0.015a	0.165a	0.090a
50	0.106a	0.127a	0.116a
75	0.006a	0.189b	0.097a
100	0.078a	0.118a	0.098a
Media	0.051a	0.149b	
Fuente (p)	0.03		
Nivel (p)	0.98		
F X N (p)	0.50		

Cifras con letras diferentes en los niveles de inclusión indican diferencias estadísticas significativas de las fuentes en ese nivel (P<0.05)

**Cuadro 14. Respuesta a la prueba de hipersensibilidad cutánea basófila retardada al día 20 de edad (respuesta en mm). Experimento 1.**

Nivel (mg/kg)	ZnSO <sub>4</sub> ·H <sub>2</sub> O	Zn(HMTBa) <sub>2</sub>	MEDIA
0	0.403	0.403	0.403
25	0.225	0.368	0.296
50	0.372	0.558	0.465
75	0.301	0.493	0.397
100	0.519	0.519	0.519
Media	0.354	0.484	
Fuente (p)	0.059		
Nivel (p)	0.23		
F X N (p)	0.84		

<b>Cuadro 15. Media geométrica del título de anticuerpos contra ENC de los de los pollos a los 21 días de edad. Experimento 1.</b>			
<b>Nivel (mg/kg)</b>	<b>ZnSO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O</b>	<b>Zn(HMTBa)<sub>2</sub></b>	<b>MEDIA</b>
<b>0</b>	137.0	137.0	137.0
<b>25</b>	149.4	205.9	177.7
<b>50</b>	183.0	221.2	199.4
<b>75</b>	122.2	170.0	142.7
<b>100</b>	140.1	216.2	170.6
<b>Media</b>	148.7	203.3	
<b>Fuente (p)</b>	0.13		
<b>Nivel (p)</b>	0.71		
<b>F X N (p)</b>	0.99		

Letras diferentes en los niveles de inclusión indican diferencias estadísticas significativas de las fuentes en ese nivel (P<0.05)

<b>Cuadro 16. Incidencia de lesiones en cojinete plantar en número de pollos por tratamiento al día 21 de edad. Experimento 1.</b>					
<b>Nivel Zn (mg/kg)</b>	<b>0</b>	<b>25</b>	<b>50</b>	<b>75</b>	<b>100</b>
<b>ZnSO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O</b>	6ab	4b	11a	8ab	6ab
<b>Zn(HMTBa)<sub>2</sub></b>	6ab	4b	9ab	6ab	7ab

Cifras con letras diferentes entre los tratamientos indican diferencias estadísticas significativas (P<0.05)

<b>Cuadro 17. Longitud de la tercera pluma primaria del ala (cm) al día 21 de edad. Experimento 1.</b>			
<b>Nivel (mg/kg)</b>	<b>ZnSO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O</b>	<b>Zn(HMTBa)<sub>2</sub></b>	<b>MEDIA</b>
<b>0</b>	10.7	10.7	10.7
<b>25</b>	10.7	10.5	10.7
<b>50</b>	10.7	10.6	10.7
<b>75</b>	10.3	10.6	10.4
<b>100</b>	10.4	10.5	10.5
<b>Media</b>	10.5	10.5	
<b>Fuente (p)</b>	0.88		
<b>Nivel (p)</b>	0.22		
<b>F X N (p)</b>	0.11		

<b>Cuadro 18. Resistencia de tibia, intestino y piel (Kgf). Experimento 1</b>									
<b>Resistencia de intestino</b>				<b>Resistencia de tibia</b>			<b>Resistencia de Piel</b>		
<b>Nivel (mg/kg)</b>	<b>ZnSO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O</b>	<b>Zn(HMTBa)<sub>2</sub></b>	<b>MEDIA</b>	<b>ZnSO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O</b>	<b>Zn(HMTBa)<sub>2</sub></b>	<b>MEDIA</b>	<b>ZnSO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O</b>	<b>Zn(HMTBa)<sub>2</sub></b>	<b>MEDIA</b>
<b>0</b>	0.281	0.281	0.281	16.240	16.240	16.24	1.961	1.961	1.96
<b>25</b>	0.292	0.288	0.290	13.614	15.088	14.35	1.863	2.058	1.96
<b>50</b>	0.314	0.288	0.301	14.536	13.627	14.08	2.078	1.844	1.96
<b>75</b>	0.299	0.291	0.295	14.154	14.290	14.22	1.958	1.942	1.95
<b>100</b>	0.283	0.298	0.291	11.909	14.868	13.39	1.973	1.915	1.94
<b>Media</b>	0.297	0.291		13.553	14.468		1.970	1.944	
<b>Fuente (p)</b>	0.643			0.166			1.000		
<b>Nivel (p)</b>	0.940			0.743			0.826		
<b>F.N (p)</b>	0.749			0.195			0.786		
<b>Peso</b>				<.0001					

**Cuadro19. Niveles de minerales esperados y encontrados en las dietas del Experimento 2.**

FASE	TRATAMIENTO	Zn (ppm) Esperado	Zn (ppm) Analizado	Cu (ppm) Esperado	Cu (ppm) Analizado	Mn (ppm) Esperado	Mn (ppm) Analizado
INIC	Sin Zn adicionado (T1)	120	119.97	15	16.55	50	72.37
INIC	Zn 40 (T2)	160	146.61	15	16.89	50	53.52
INIC	Zn 80 (T3)	200	184.34	15	16.96	50	70.08
INIC	Zn, Mn, Cu 40,40,20 (T4)	160	143.98	35	40.21	90	87.62
CREC	Sin Zn adicionado (T1)	100	96.69	15	15.74	50	41.02
CREC	Zn 40 (T2)	140	122.00	15	12.59	50	51.82
CREC	Zn 80 (T3)	180	142.19	15	11.79	50	39.85
CREC	Zn, Mn, Cu 40,40,20 (T4)	140	140.59	35	32.48	90	94.12
FINAL	Sin Zn adicionado (T1)	80	74.30	15	11.90	50	46.26
FINAL	Zn 40 (T2)	120	149.64	15	16.45	50	53.69
FINAL	Zn 80 (T3)	160	172.46	15	13.40	50	37.65
FINAL	Zn, Mn, Cu 40,40,20 (T4)	120	140.90	35	29.81	90	68.85

**Cuadro 20. Análisis químico proximal realizado a las dietas experimentales del Experimento 2**

FASE	TRATAMIENTO	CENIZAS (%)	PROTEÍNA CRUDA (%)	GRASA (%)	FIBRA (%)	HUMEDAD (%)
INIC	Sin Zn adicionado (T1)	5.49	20.80	3.92	1.84	12.56
INIC	Zn 40 (T2)	5.99	22.46	4.51	1.79	12.19
INIC	Zn 80 (T3)	6.10	22.18	4.14	1.83	11.95
INIC	Zn, Mn, Cu 40,40,20 (T4)	5.91	22.73	4.21	1.77	11.66
CREC	Sin Zn adicionado (T1)	5.15	18.74	5.66	1.73	12.20
CREC	Zn 40 (T2)	4.77	17.49	7.20	1.62	12.11
CREC	Zn 80 (T3)	4.77	16.70	6.95	1.53	12.58
CREC	Zn, Mn, Cu 40,40,20 (T4)	5.08	19.49	5.89	2.76	12.27
FINAL	Sin Zn adicionado (T1)	4.89	17.22	6.86	1.71	12.52
FINAL	Zn 40 (T2)	5.39	20.91	5.88	1.73	12.46
FINAL	Zn 80 (T3)	4.40	18.76	7.04	1.76	12.67
FINAL	Zn, Mn, Cu 40,40,20 (T4)	4.72	18.42	7.03	1.93	12.64

**Cuadro 21. Ejemplo de forma de registro elaborada por el personal calificado del rastro local para la prueba de integridad de piel. Los resultados se muestran en número de pollos. Experimento 2.**

Trat	Pododermatitis plantar de 1er grado	Pododermatitis plantar de 2º grado	Rasgado de 1er grado					Rasgado de 2º grado				
			Pechuga	Una pierna	Dos piernas	Un muslo	Dos muslos	Pechuga	Una pierna	Dos piernas	Un muslo	Un muslo
1	5	0	0	1	0	3	0	0	0	0	0	0
1	5	0	0	0	0	2	1	0	0	0	0	0
2	3	0	0	0	0	4	0	0	0	0	0	0
2	1	0	0	0	0	3	1	1	0	0	0	0
3	3	0	1	0	0	2	0	0	0	0	1	0
3	3	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0
4	2	0	1	0	0	1	0	1	0	0	1	0
4	2	0	1	0	0	2	1	0	0	0	0	0

<b>Cuadro 22. Parámetros productivos en las 7 semanas de producción en el Experimento 2.</b>				
<b>SEMANA 1</b>				
TRATAMIENTO	PESO (g)	MORTALIDAD (%)	CONSUMO ALIMENTO (g)	CONVERSIÓN ALIMENTICIA
Sin Zn adicionado	115.2a	1.2b	105.0a	0.91a
Zn 40	108.9a	1.3b	101.0a	0.93a
Zn 80	112.0a	1.3b	101.1a	0.91a
Zn, Mn, Cu 40,40,20	109.8a	3.1a	99.6a	0.91a
<b>SEMANA 2</b>				
TRATAMIENTO	PESO (g)	MORTALIDAD (%)	CONSUMO /acum/pollo (g)	CONVERSIÓN ALIMENTICIA
Sin Zn adicionado	283.5a	1.5b	406.3a	1.43a
Zn 40	271.7a	1.6b	387.2a	1.43a
Zn 80	281.3a	1.9b	399.6a	1.42a
Zn, Mn, Cu 40,40,20	275.2a	3.9a	397.3a	1.45a
<b>SEMANA 3</b>				
TRATAMIENTO	PESO (g)	MORTALIDAD (%)	CONSUMO /acum/pollo (g)	CONVERSIÓN ALIMENTICIA
Sin Zn adicionado	558.4a	2.2b	898.9a	1.61a
Zn 40	533.0a	2.6b	880.5a	1.64a
Zn 80	560.9a	3.1b	895.9a	1.60a
Zn, Mn, Cu 40,40,20	556.9a	4.5a	904.4a	1.63a
<b>SEMANA 4</b>				
TRATAMIENTO	PESO (g)	MORT (%)	CONSUMO /acum/pollo (g)	CONVERSIÓN ALIMENTICIA
Sin Zn adicionado	1000.0a	4.5a	1651a	1.65a
Zn 40	981.9a	4.9a	1628a	1.66a
Zn 80	996.0a	5.6a	1662a	1.67a
Zn, Mn, Cu 40,40,20	1006.0a	7.2a	1660a	1.65a
<b>SEMANA 5</b>				
TRATAMIENTO	PESO (g)	MORT (%)	CONSUMO /acum/pollo (g)	CONVERSIÓN ALIMENTICIA
Sin Zn adicionado	1644.1a	5.1a	2749a	1.67a
Zn 40	1590.5a	5.9a	2686a	1.69a
Zn 80	1623.7a	6.1a	2752a	1.70a
Zn, Mn, Cu 40,40,20	1625.2a	7.9a	2742a	1.69a
<b>SEMANA 6</b>				
TRATAMIENTO	PESO (g)	MORT (%)	CONSUMO /acum/pollo (g)	CONVERSIÓN ALIMENTICIA
Sin Zn adicionado	2270a	6.0a	4059ab	1.79a
Zn 40	2213a	6.5a	3955b	1.79a
Zn 80	2290a	7.5a	4096a	1.79a
Zn, Mn, Cu 40,40,20	2239a	8.7a	4034ab	1.82a
<b>SEMANA 7</b>				
TRATAMIENTO	PESO (g)	MORT (%)	CONSUMO /acum/pollo (g)	CONVERSIÓN ALIMENTICIA
Sin Zn adicionado	2862 a	9.7a	5581a	1.95ab
Zn 40	2867 a	10.1a	5405a	1.88b
Zn 80	2879 a	10.5a	5585a	1.94ab
Zn, Mn, Cu 40, 40,20	2809 a	12.0a	5550a	1.99a

Cifras con letras diferentes entre los tratamientos indican diferencias significativas (P<0.05).

**Cuadro 23. Peso y resistencia de intestino, piel y tibia a los días 21 y 48 de edad. Experimento 2.**

TRATAMIENTO	PESO (kg)	RESISTENCIA INTESTINO (Kgf)	RESISTENCIA PIEL (Kgf)	RESISTENCIA TIBIA (Kgf)
<b>21 DÍAS DE EDAD</b>				
Sin Zn adicionado	0.515 a	0.247 a	1.363 a	7.963 a
Zn 40	0.556 a	0.241 a	1.360 a	8.856 a
Zn 80	0.526 a	0.228 a	1.272 a	8.093 a
Zn, Mn, Cu (40, 40, 20)	0.560 a	0.252 a	1.070 a	8.132 a
<b>48 DIAS DE EDAD</b>				
Sin Zn adicionado	2.881 a	0.454 a	2.734 b	30.238 a
Zn 40	2.826 a	0.417 a	2.925 b	32.000 a
Zn 80	2.870 a	0.444 a	2.756 b	31.761 a
Zn, Mn, Cu (40, 40, 20)	2.873 a	0.464 a	3.408 a	30.157 a

Cifras con letras diferentes entre los tratamientos indican diferencias significativas (P<0.05).

**Cuadro 24. Lesiones en cojinete plantar a los días 21 y 48 de edad. Experimento 2.**

<b>LESIONES DE COJINETE PLANTAR (No. casos por grado de lesión)</b>				
<b>21 días de edad</b>				
	<b>TRATAMIENTO</b>			
	<b>0</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>
Sin Zn adicionado	20a	10a	0	0
Zn 40	24a	6a	0	0
Zn 80	23a	7a	0	0
Zn, Mn, Cu (40, 40, 20)	21a	8a	1	0
<b>48 días de edad</b>				
	<b>TRATAMIENTO</b>			
	<b>0</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>
Sin Zn adicionado	10b	13a	7	0
Zn 40	11b	15a	3	1
Zn 80	16ab	11a	1	2
Zn, Mn, Cu (40, 40, 20)	19a	9a	2	0

Cifras con letras diferentes entre los tratamientos indican diferencias significativas (P<0.05).

**Cuadro 25. Porcentaje de cenizas y concentración de Zn en hueso encontrados en los días 21 y 48 de edad. Experimento 2.**

TRATAMIENTO	Día 21 de edad		Día 48 de edad	
	% cenizas BS	mg/kg Zn BS	% cenizas BS	mg/kg Zn BS
Sin Zn adicionado	55.6a	335.0a	44.2a	181.7a
Zn 40	55.1a	329.7a	44.8a	185.2a
Zn 80	54.9a	345.5a	45.1a	182.6a
Zn, Mn, Cu (40, 40, 20)	54.0a	317.1a	44.6a	179.9a
	P=0.09	P=0.14	P=0.61	P=0.80

Letras diferentes entre los tratamientos indican diferencias significativas ( $P < 0.05$ ).

**Cuadro 26. Evaluación en campo por el departamento de control de calidad. Se muestra el tipo de lesiones observadas así como la incidencia.**

CARACTERÍSTICAS	TRATAMIENTOS			
	Sin Zn adicionado	Zn 40	Zn 80	Zn, Mn, Cu (40, 40, 20)
Pododermatitis plantar de 1er. Grado	31 (15.5%) a	26 (13%) ab	28 (14%) a	19 (9.5%) b
Pododermatitis plantar de 2do. Grado	0 a	1 (0.5%) a	2 (1%) a	0 a
<b>RASGADO 1ER. GRADO</b>				
Pechuga	2 (1%) a	1 (0.5%) a	8 (4%) a	4 (2%) a
Una Pierna	1 (0.5%) a	0 a	0 a	0 a
Dos Piernas	0 a	0 a	0 a	0 a
Un Muslo	20 (10%) ab	20 (10%) ab	29 (14.5%) a	13 (6.5%) b
Dos Muslos	8 (4%) ab	9 (4.5%) ab	2 (1%) a	10 (5%) b
<b>TOTAL</b>	31 (15.5%)ab	30 (15%)ab	39 (19.5%)a	27 (13.5%)b
<b>RASGADO 2DO. GRADO</b>				
Pechuga	0 a	1 (0.5%) a	0 a	1 (0.5%) a
Una Pierna	0 a	0 a	0 a	0 a
Dos Piernas	0 a	0 a	0 a	0 a
Un Muslo	0 a	1 (0.5%) a	1 (0.5%) a	1 (0.5%) a
Dos Muslos	0 a	1 (0.5%) a	0 a	0 a
<b>TOTAL</b>	0a	3 (1.5%)a	1 (0.5%)a	2 (1%)a
<b>SIN NINGÚN DEFECTO</b>				
Pollos	6	10	5	15
Porcentaje	3%a	5%ab	2.5%a	7.5%b

Letras diferentes entre los tratamientos indican diferencias significativas ( $P < 0.05$ ).

<b>Cuadro 27. Resultados obtenidos por la prueba de inhibición de hemoaglutinación para ENC a los 18 días pos vacunación. Experimento 2.</b>							
<b>Sin Zn adicionado</b>		<b>Zn 40</b>		<b>Zn 80</b>		<b>Zn, Mn, Cu (40, 40, 20)</b>	
<b>Dilución</b>	<b>Sueros</b>	<b>Dilución</b>	<b>Sueros</b>	<b>Dilución</b>	<b>Sueros</b>	<b>Dilución</b>	<b>Sueros</b>
<b>4</b>	0	<b>4</b>	0	<b>4</b>	2	<b>4</b>	0
<b>8</b>	0	<b>8</b>	3	<b>8</b>	2	<b>8</b>	0
<b>16</b>	4	<b>16</b>	1	<b>16</b>	2	<b>16</b>	0
<b>32</b>	5	<b>32</b>	8	<b>32</b>	1	<b>32</b>	6
<b>64</b>	4	<b>64</b>	2	<b>64</b>	2	<b>64</b>	3
<b>128</b>	6	<b>128</b>	0	<b>128</b>	7	<b>128</b>	6
<b>256</b>	1	<b>256</b>	2	<b>256</b>	2	<b>256</b>	5
<b>512</b>	0	<b>512</b>	4	<b>512</b>	2	<b>512</b>	0
Total	20		20		20		20
Media Geom.	<b>53.85</b>		<b>57.70</b>		<b>59.70</b>		<b>90.50</b>

<b>Cuadro 28. Concentración de Zn encontrado en dietas basales maíz-soya sin suplementación para pollitos.</b>	
<b>Referencia</b>	<b>mg/kg de Zn</b>
Ao y Pirce, 2006	23
Burrel <i>et al.</i> , 2004	30
Cao <i>et al.</i> , 2002	24
Huang <i>et al.</i> , 2007	28
Hudson <i>et al.</i> , 2005	29
Mohanna y NYS 1999b	37
Pimentel <i>et al.</i> , 1991a,b	28
Sandoval <i>et al.</i> , 1997	35
Wedekind <i>et al.</i> , 1992	45
Presente estudio	45

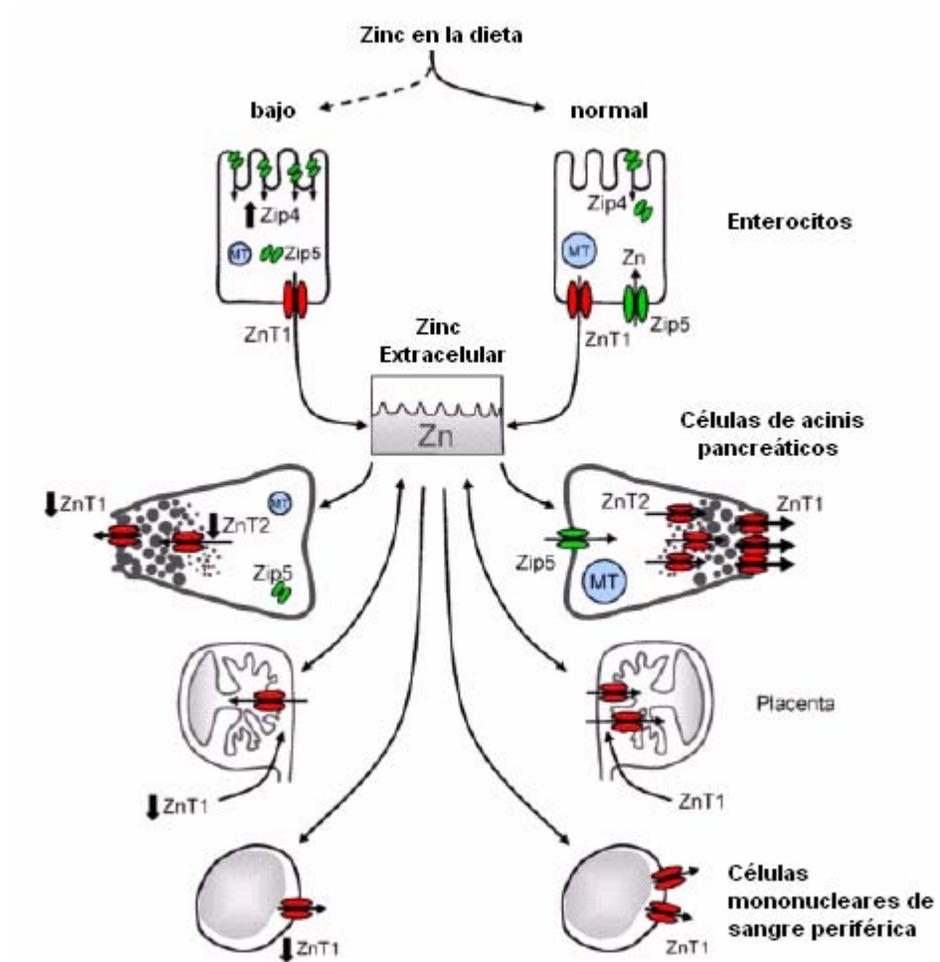
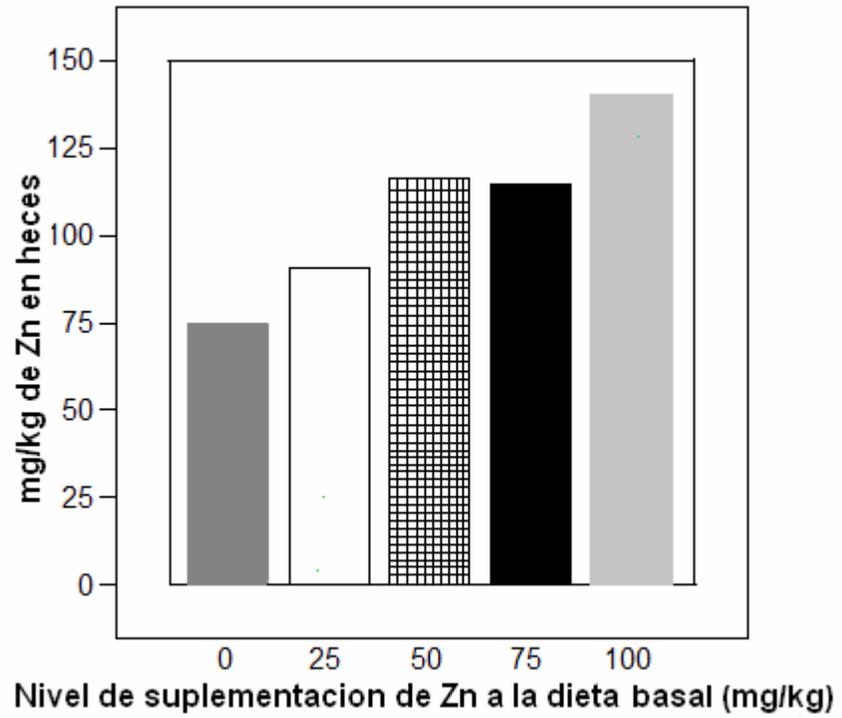


Fig. 1. Cambios en la expresión de transportadores de zinc en ratones como respuesta a su contenido en la dieta (Cousins *et al.*, 2006).



**Fig. 2. Dinamómetro digital (IMADA MV 11) utilizado para determinar la resistencia de tejidos (Kgf). Se utilizó una distancia de 3.6 cm entre las dos columnas.**



**Fig. 3. Medias marginales de la concentración de Zn en heces en cada nivel de inclusión. Experimento 1.**

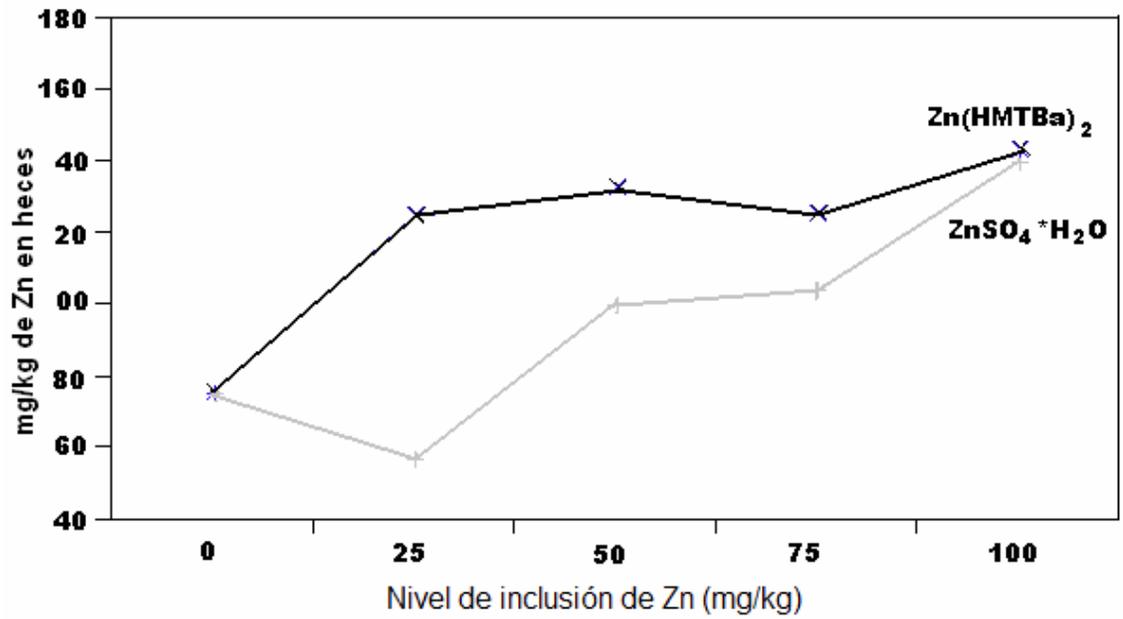
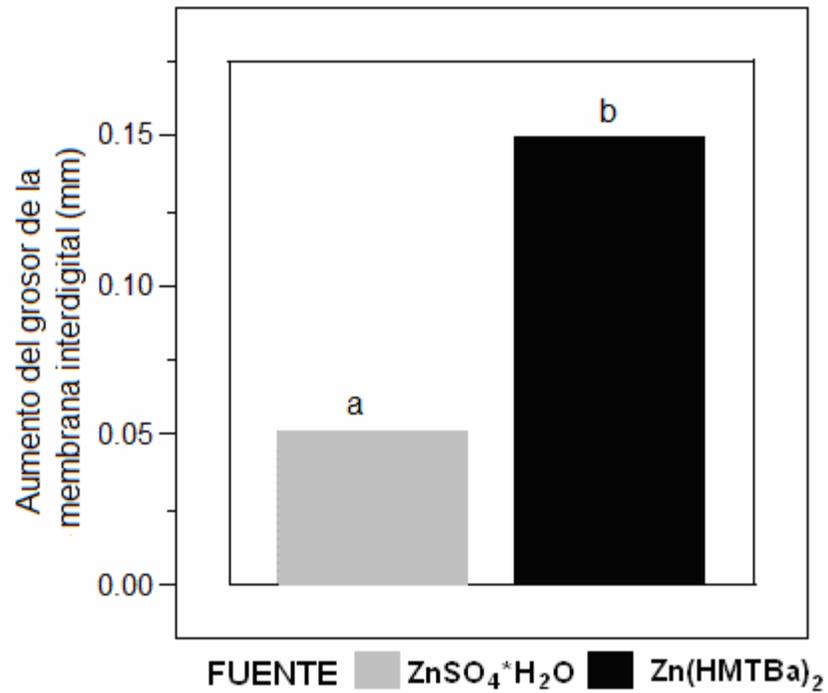
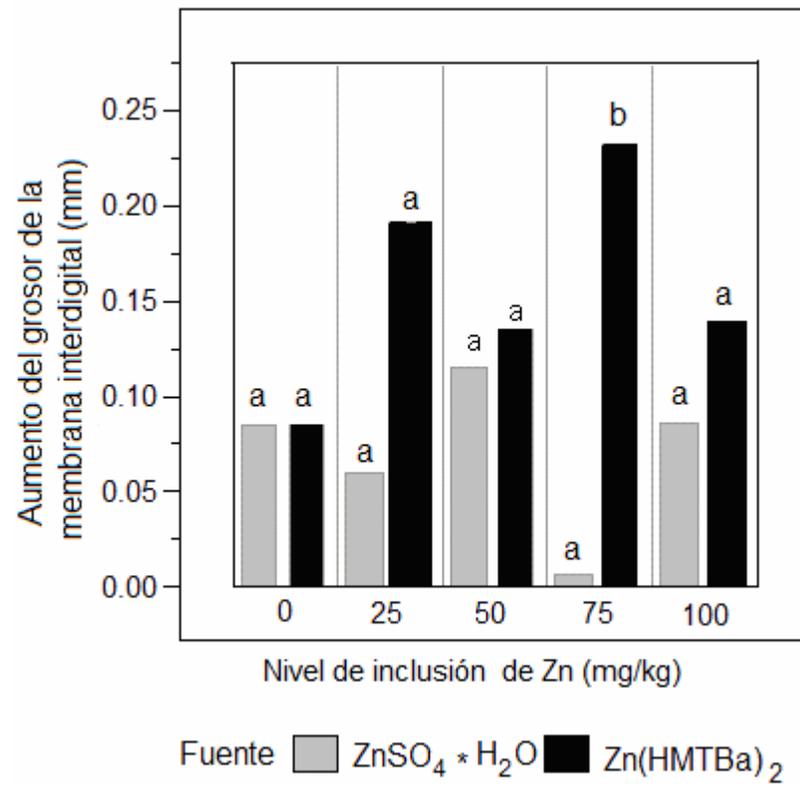


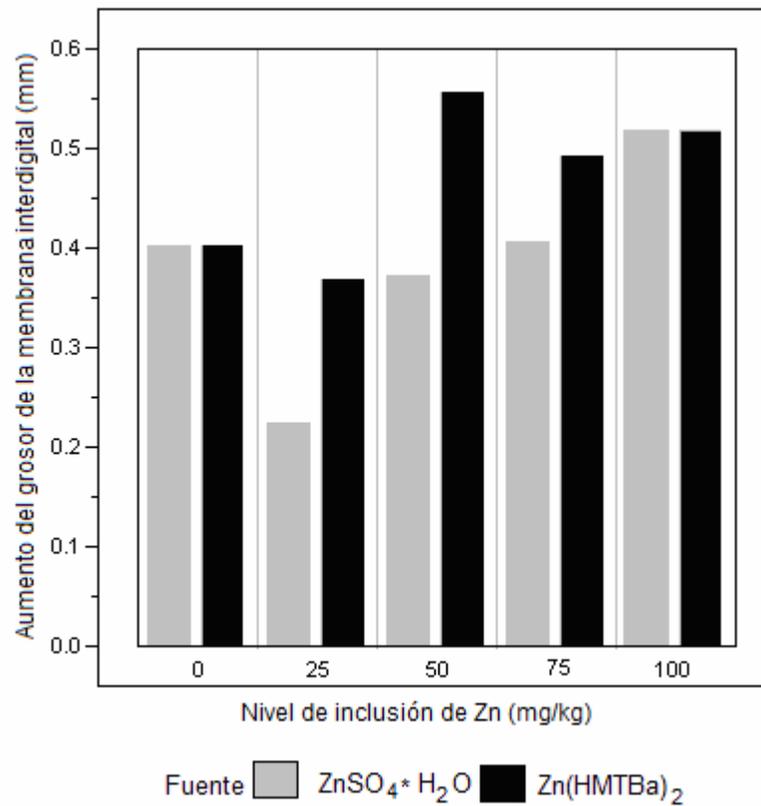
Fig. 4. mg/kg de Zn en heces para cada nivel de inclusión y fuente. Se observaron diferencias significativas ( $P < 0.05$ ) entre las fuentes en los niveles de inclusión de 25 y 50 mg/kg. Experimento 1.



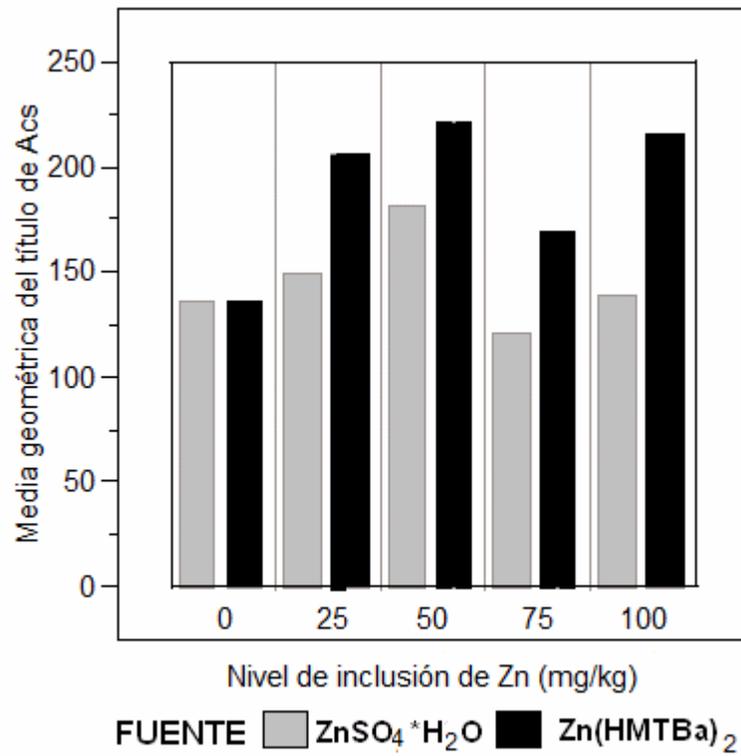
**Fig.5. Medias marginales de la respuesta a la prueba de hipersensibilidad cutánea basófila retardada de cada fuente de zinc al día 14 de edad. Se detectaron diferencias significativas entre las dos fuentes ( $P < 0.05$ ). Experimento 1.**



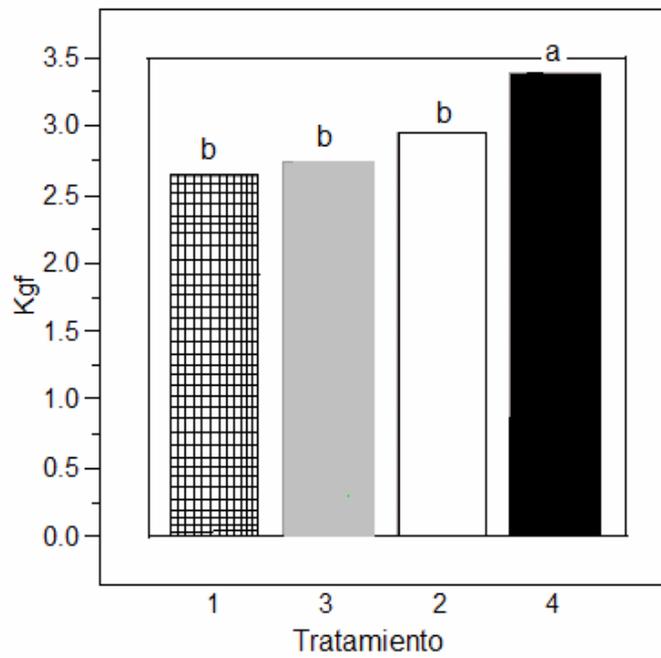
**Fig. 6.** Respuesta a la prueba de hipersensibilidad cutánea basófila retardada en cada tratamiento al día 14 de edad. Letras diferentes en los diferentes niveles de Zn representan diferencias estadísticamente significativas ( $P < 0.05$ ). Experimento 1.



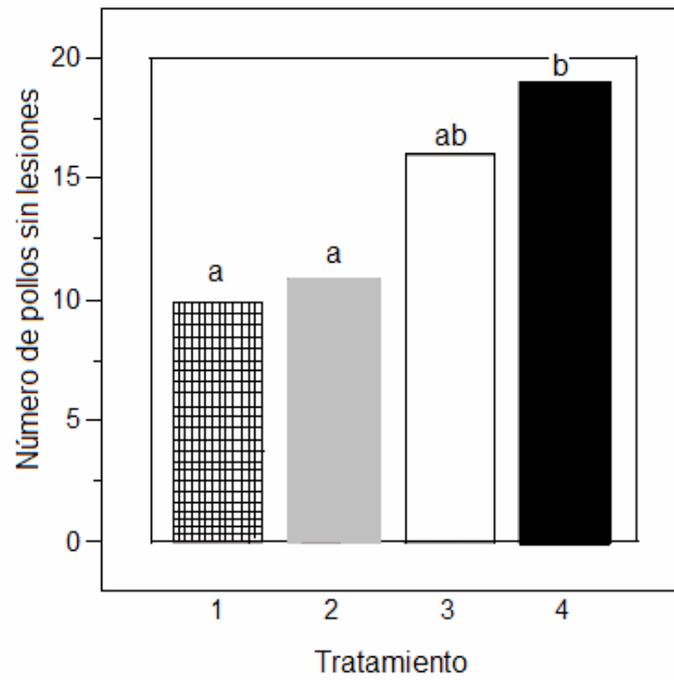
**Fig. 7.** Respuesta a la prueba de hipersensibilidad cutánea basófila retardada en cada tratamiento al día 20 de edad. Experimento 1.



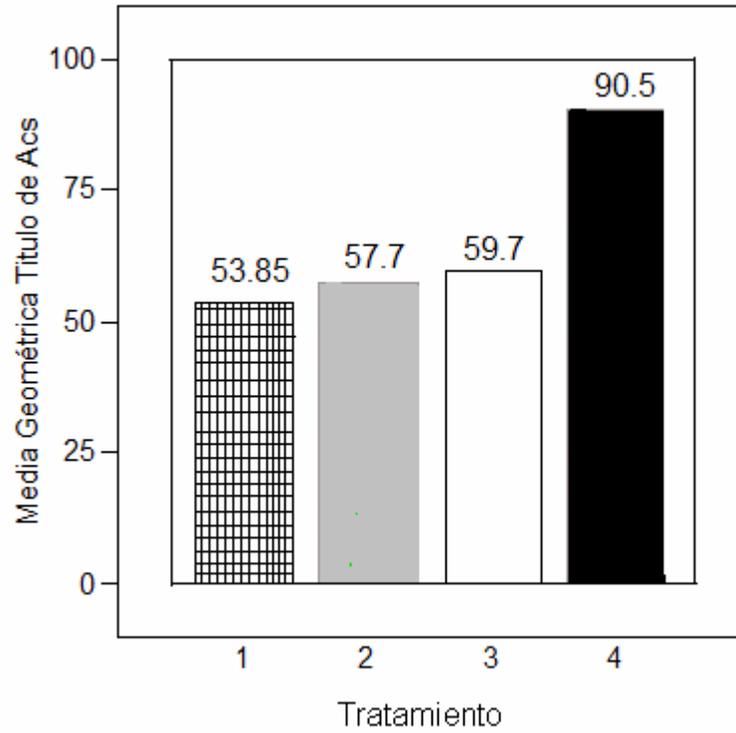
**Fig. 8.** Media geométrica del título de anticuerpos contra ENC en cada tratamiento a los 11 días post vacunación. Experimento 1.



**Fig. 9. Resistencia de piel observada al día 48 de edad. T1, sin Zn adicionado; T2, Zn 40; T3, Zn 80; T4, Zn, Mn, Cu (40, 40,20). Letras diferentes entre los tratamientos significan diferencias significativas ( $P < 0.05$ ). Experimento 2**



**Fig. 10.** Número de pollos que no presentaron lesiones en cojinete plantar a los 48 días de edad. T1, sin Zn adicionado; T2, Zn 40; T3, Zn 80; T4, Zn, Mn, Cu (40, 40,20). Letras diferentes entre los tratamientos representan diferencias significativas ( $P < 0.05$ ). Experimento 2.



**Fig. 11.** Resultados obtenidos en la prueba de inhibición de la hemoaglutinación para la ENC a los 18 días post vacunación. T1, sin Zn adicionado; T2, Zn 40; T3, Zn 80; T4, Zn, Mn, Cu (40, 40,20). Experimento 2.