

**UNIVERSIDAD POLITÉCNICA DE VALENCIA**

**Departamento de producción animal.**

**TESIS DE MASTER.**

**“EFECTO DE LA SUPLEMENTACION CON CANTAXANTINA EN PIENSOS  
DE REPRODUCTORAS PESADAS EN PRODUCCION Y SOBRE LA VIABILIDAD DE  
SU PROGENIE”**



***AUTOR: CARLOS. HERNÁNDEZ LAFORET,***

***DIRECTOR: PABLO CATALA GREGORI***

***VALENCIA, DICIEMBRE de 2009***

**INDICE DE CONTENIDOS**

|                                                                     |           |
|---------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>1.RESUMEN</b>                                                    | <b>4</b>  |
| <b>2.INTRODUCCIÓN</b>                                               | <b>6</b>  |
| 2.1 LA CANTAXANTINA.                                                | 8         |
| <b>3.MATERIALES Y METODOS</b>                                       | <b>10</b> |
| 3.1 ANIMALES Y PIENSOS                                              | 10        |
| 3.2 CONTROLES DE RESULTADOS ZOOTÉCNICOS EN PRODUCCIÓN               | 11        |
| 3.3 CONTROLES EN MACHOS                                             | 12        |
| 3.3.1 Pruebas en granja                                             | 12        |
| 3.3.2 Pruebas histológicas                                          | 14        |
| 3.3.3 Valores hormonales                                            | 14        |
| 3.4 CONTROLES EN POLLITOS                                           | 14        |
| 3.4.1 Pruebas en Sala de incubar                                    | 14        |
| 3.4.1 Pruebas en sangre                                             | 15        |
| 3.5 CONTROLES EN PRODUCCIÓN.                                        | 15        |
| 3.6 MEDICION DEL POTENCIAL DE OXIDACIÓN EN HUEVOS                   | 16        |
| 3.7 MEDICION DEL POTENCIAL DE OXIDACIÓN EN HIGADOS                  | 16        |
| <b>4.RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>                                     | <b>17</b> |
| 4.1 ANALITICA DE MUESTRAS DE PIENSOS                                |           |
| 4.2 RESULTADOS ZOOTÉCNICOS EN EL LOTE DE REPRODUCTORAS              | 17        |
| 4.2.1 Resultados en el número de huevos incubables                  | 17        |
| 4.2.2 Porcentaje de nacimiento                                      | 18        |
| 4.2.3 Tamaño del huevo                                              | 20        |
| 4.3 RESULTADOS SOBRE EL CONTROL DE LOS MACHOS                       | 21        |
| 4.3.1 Análisis del peso de los gallos y el tamaño de los testículos | 21        |
| 4.3.2 Análisis hormonal en muestras séricas                         | 23        |
| 4.3.3 Análisis de los cortes histológicos de los testículos         | 24        |
| 4.4 RESULTADO SOBRE SU PROGENIE                                     | 26        |
| 4.4.1 Resultados obtenidos en pollito de un día                     | 26        |
| 4.4.2 Pesos de vísceras                                             | 28        |
| 4.4.3 Resultados de las muestras de sangre en el pollito de un día  | 29        |
| 4.4.3.1 Transaminasas.                                              | 29        |
| 4.4.3.2 Enzimas marcadoras de daño tisular                          | 30        |

|                                                                                                |        |
|------------------------------------------------------------------------------------------------|--------|
| 4.5 EVALUACION DEL NIVEL DE OXIDACIÓN EN HUEVO INCUBABLE Y EN<br>HIGADOS DE POLLITOS DE UN DIA | 32     |
| 4.6 RESULTADOS DE POLLITOS EN LA PRIMERA SEMANA DE VIDA                                        | 33     |
| <br>5. CONCLUSIONES                                                                            | <br>35 |

## 1.RESUMEN

El experimento se realizó sobre un lote de 16.140 reproductoras pesadas de la estirpe COBB 500, con el objetivo de evaluar el efecto de la alimentación con un pienso comercial suplementado con cantaxantinas sobre los parámetros productivos y reproductivos de las reproductoras y sobre la viabilidad de los pollitos en su primera semana de vida.

Los animales fueron criados en la misma explotación desde 1 día de vida hasta la semana 21, en esta fase fueron alimentados con un pienso comercial. En la semana 21 de vida fueron trasladados a una explotación de puesta y se distribuyeron en 2 naves (nave 1 y nave 2), 8.134 gallinas y 889 gallos en cada una de las naves. Las naves eran de idénticas características y equipamiento. El experimento se llevó a cabo hasta la semana 57 de vida de los animales.

En estas condiciones y a partir de las 25 semanas de edad del lote, se comenzó a alimentar a los animales con el objeto de comparar 2 tratamientos. A los animales de la nave 1 se les distribuyó una ración diaria con un pienso denominado RP-16 PLUS (pienso comercial suplementado con 0.06 % de cantaxantinas) y los animales de la nave 2 se alimentaron con pienso comercial RP-16 (grupo control).

Esta tesina tiene diversas características que la hacen muy interesante respecto a otros trabajos, que se han realizado sobre este tema. Quizás la más interesante es que las condiciones del lote de producción que ha servido para este estudio, son las propias de la industria avícola intensiva. Además el número de individuos objeto de los diversos experimentos es muy elevado para una prueba de este tipo. Estas razones hacen que las conclusiones extraídas puedan ser extrapoladas a la producción industrial.

Aunque las diferencias obtenidas en el lote de producción no han sido significativas, los resultados obtenidos han sido favorables al lote tratamiento, respecto al lote control. Pero donde mejor parece que respondió el producto fue en los resultados de mortalidad durante la primera semana de vida de la progenie. El % de mortalidad obtenido en el lote tratamiento vs control, fue significativamente menor (1,38%) Este resultado podría ser debido al efecto positivo que tiene de protección ante la oxidación de la cantaxantinas y de la efectividad de la transmisión vertical de esta protección al pollito de 1 día a través de la madre.



*Foto 1 Granja comercial objeto de la prueba*



*Foto 2 Lote de Reproductoras*

## 2.INTRODUCCION

Los carotenos están presentes de forma natural en el reino animal, cumpliendo numerosas funciones biológicas de gran importancia.

En las aves la pigmentación que les proporciona los carotenos juega un papel muy importante en lo relacionado con la atracción sexual ( *Olson y Owens., 1998*) y el estatus de salud ( *Saino et al., 2000*)

En las aves, especialmente en palmípedas como gaviotas ( *Blount et al.,2002*) y flamencos ( *Tommen et wackernagel.,2000*). no solo tienen un efecto como pigmentante, además sirven como mejorantes de la salud, por sus efectos antioxidantes y como precursores de la vitamina A y protectores de la vitamina E. Por otra parte diversos estudios, ( *Jlang et al 1994*, *Haq et al., 1995*, *Inborr et al., 1996*) sugieren que el enriquecimiento de los piensos con carotenoides mejoran la incubabilidad de los huevos.

Se han descrito ( *Korhnhauser et al., 1990 ; Latscha., 1992*) otros efectos positivos sobre numerosas funciones biológicas como:

- Respuesta Provitamina A
- Immunitaria
- Protección del Epitelio
- Endocrinología
- Quimiorreceptores
- Crecimiento
- Reproducción
- Balance Hídrico
- Estabilización de Membranas
- Metabolismo del Calcio

Otro de los efectos beneficiosos que encontramos de los carotenos es como mejorante de la eficiencia reproductiva. El efecto antioxidante de los carotenos sobre el tejido de los espermatozoides y sobre los embriones, hace pensar que la suplementación de los piensos con carotenos puede disminuir la susceptibilidad de estos tejidos a la oxidación lipídica y por lo tanto puede tener un efecto positivo sobre la fertilidad favoreciéndola. Además en las gallinas aumenta su capacidad de almacenaje y retención de esperma ( *Balf et al., 1998* ).

Siguiendo en esta línea, posteriores estudios demostraron que en la yema de huevo de aves salvajes los niveles de carotenos pueden ser hasta un 500% más alto que los niveles encontrados en la yema de huevo de aves de granja( *Surai y Sparks, 2000*). Ver tabla 1.

| Concentración caroteno       |
|------------------------------|
| 10-15 mg/g en aves de granja |
| 60-70 mg/g en gaviotas       |
| 100 mg/g en cormoranes       |

*Tabla 1 Niveles de concentración de carotenos en algunas aves mg de carotenos/m g de yema de huevo (Fuente DSM products)*

Al incorporar carotenos al pienso de las reproductoras parte de estos pasa a la yema de los huevos y por extensión a los tejidos del embrión, sobretodo al hígado. Con la transferencia de grandes cantidades de carotenos de manera vertical, la gallina suministra una potente protección al desarrollo del embrión contra los daños provocados por la oxidación.

Durante el desarrollo embrionario las células del pollito proliferan a gran velocidad y son muy sensibles a los daños oxidativos de radicales libres, sobretodo peróxidos y superperóxidos. Estos radicales libres que proceden del metabolismo generan, procesos oxidativos que conllevan daños importantes en las membranas celulares. La actividad antioxidante resulta en la estabilización de los ácidos grasos sensibles a la oxidación en el metabolismo celular. Este efecto de protección es especialmente importante después del nacimiento de los pollitos. Así, los efectos beneficiosos de la protección maternal se prolongarían hasta la primera semana de vida.

## 2.1 LACANTAXANTINA

Dentro de las diferentes fuentes de carotenos presentes en la naturaleza uno de los más eficientes es la cantaxantina, que es un potente bloqueador de los radicales libres y el antioxidante más potente dentro de la familia de los carotenos.

Es un carotenoide perteneciente a la categoría de las xantófilas. Su fórmula química es  $C_{40}H_{52}O_2$  y su número de aditivo alimentario es E161g. Originalmente fue aislado de hongos (*Cantharellus cinnabarinus*). También se halla en clorofitas, bacterias (*Bradyrhizobium*), crustáceos y diversos peces. En la Unión Europea la cantaxantina está autorizada como aditivo en pollos, y nutriente y colorante para truchas y salmón. La Unión Europea ha establecido un límite de 80mg/Kg de alimento. Para evitar posibles toxicidades.

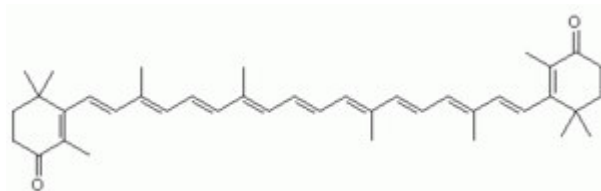


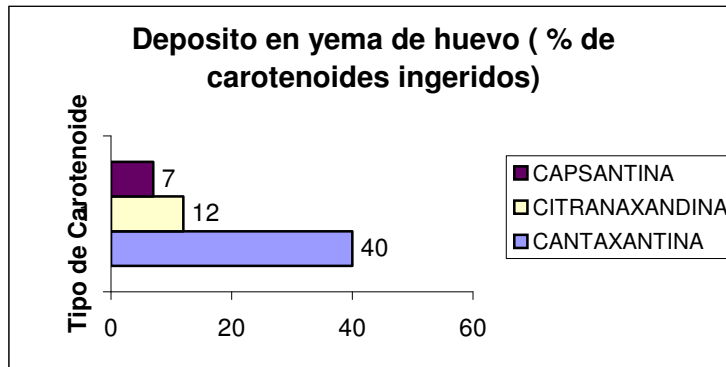
Figura 1 Estructura química de la cantaxantina (Fuente [www.wikipedia.com](http://www.wikipedia.com))



Foto 3 *Cantharellus cinnabarinus*

La cantaxantina ha mostrado buenas propiedades para bloquear radicales libres a bajos niveles de oxígeno, como los encontrados en tejidos sanos (Frankel et al, 1989). Además otras de las ventajas demostradas es que puede participar en el mejor aprovechamiento de la vitamina E, incluso en su reciclaje (Bohm et al., 1997).

Otra de las características de las cantaxantinas respecto a otros carotenos, es el elevado % de cantaxantina que se transfiere a la yema del huevo respecto al total ingerido en la dieta. Además es el carotenoide más estable en los piensos tratados térmicamente, como es habitual en las reproductoras.



Gráfica 1 Concentración de cantaxantinas respecto a otros carotenoides.(Fuente Propia)

### 3 MATERIALES Y METODOS.

#### 3.1 ANIMALES Y PIENSOS

Se seleccionó una granja de producción de 16.140 reproductoras Cobb 500 con una edad de 25 semanas. Las gallinas se alojaron en dos naves con un total de 8.070 gallinas en cada nave más un 11% de machos.

En este lote se suministró 2 tipos de piensos. En la Nave-1 (N-1) se suministró un pienso con el cod. RP-16 PLUS, pienso comercial suplementado con cantaxantina y en la Nave-2 un pienso comercial, control con el código RP-16.

| MATERIA PRIMA | %     | COMPOSICIÓN  | %     |
|---------------|-------|--------------|-------|
| A             | 28.15 | A            | 89,5  |
| B             | 35    | B            | 16.2  |
| G             | 6     | G            | 4.5   |
| S             | 17.66 | F            | 3.5   |
| A S           | 0.33  | C            | 11.87 |
| L S           | 0.61  | A            | 38.81 |
| GR            | 1.70  | AZ           | 3.18  |
| BI            | 0.26  | CA           | 3.11  |
| CARBONATO     | 6.95  | P            | 0.64  |
| FOSFATO       | 1.24  | P DISPONIBLE | 0.4   |
| MONOCALCICO   |       | CL           | 0.169 |
| SEPIOLITA     | 1     | NA           | 0.16  |
| SAL           | 0.2   | LIS T        | 1.54  |
| ALIMET        | 0.17  | M+C T        | 1.38  |
| PROMOFEED     | 0.025 | MET          | 0.4   |
| ADIMIX        | 0.1   | TREO         | 0.58  |
| CANTAXANTINA  | 0.06  | TRI          | 0.19  |
| SV-542        | 0.5   |              |       |

Tabla 2 Formula pienso RP-16 PLUS ( Fuente Empresa Nutrición)

| MATERIA PRIMA | %     | MATERIA PRIMA | %     |
|---------------|-------|---------------|-------|
| A             | 28.15 | A             | 89,5  |
| B             | 35    | B             | 16.2  |
| G             | 6     | G             | 4.5   |
| 8             | 17.66 | FI            | 3.5   |
| A S           | 0.33  | CS            | 11.89 |
| L S           | 0.61  | AL            | 38.81 |
| GR            | 1.70  | AZ            | 3.18  |
| BI            | 0.26  | CA            | 3.13  |
| CARBONATO     | 7.01  | P             | 0.64  |
| FOSFATO       | 1.24  | P DISPONIBLE  | 0.4   |
| MONOCALCICO   |       |               |       |
| SEPIOLITA     | 1     | CL            | 0.16  |
| SAL           | 0.20  | NA            | 0.16  |
| ALIMET        | 0.17  | LIS T         | 1.54  |
| PROMOFEED     | 0.025 | M+C T         | 1.38  |
| ADIMIX        | 0.175 | MET           | 0.4   |
| SV-542        | 0.5   | TREO          | 0.58  |
|               |       | TRI           | 0.19  |

*Tabla 3 Formula RP-16 ( Fuente Empresa Nutrición)*

El experimento se realizó desde la semana 25 hasta la semana 57.

El experimento se desarrolló en tres partes, con la intención de estudiar los efectos de la cantaxantina en diferentes niveles.

1. Efectos sobre los parámetros productivos de las reproductoras.
2. Efecto sobre los parámetros reproductivos.
3. Efecto sobre la viabilidad del pollito de un día.

### 3.2 CONTROLES DE RESULTADOS ZOOTÉCNICOS EN PRODUCCION

Diariamente se controlaron los siguientes parámetros mediante la hoja de control semanal utilizada en las granjas de reproductores de una empresa integradora.

- Bajas por nave.
- Puesta diaria de cada uno de los lotes.
- Consumo de pienso.

Cada semana se controlaron en cada una de las naves los siguientes datos.

- Bajas totales, producción de huevos y consumo total de pienso de cada nave.

- **Peso del huevo.** Se pesaron 4 bandejas por nave y semana siempre a la misma hora y con el mismo dinamómetro.
- **% Nacimientos.** Dato obtenido de nº pollitos viables nacidos/ nº incubables cargados en las incubadoras de una empresa integradora.

### 3.3 CONTROLES SOBRE LOS MACHOS

#### 3.3.1 Pruebas en granja

Cada 6 semanas se realizó un sacrificio de machos de cada nave elegidos al azar. Los sacrificios se realizaron en las siguientes semanas de vida de los animales:

| EDAD | Nº DE ANIMALES |
|------|----------------|
| 31   | 15             |
| 36   | 15             |
| 43   | 15             |
| 50   | 10             |
| 57   | 11             |

*Tabla 4 Semana y número de machos sacrificados (Fuente Propia)*

La variación en el número de animales sacrificados osciló debido a la disponibilidad de animales en el lote.

El sacrificio de los animales se realizó mediante asfixia utilizando una cámara de CO<sub>2</sub>, como regula la normativa en vigor mediante el RD1201/2005 del 10 de octubre sobre protección de los animales utilizados para la experimentación.

Los controles que se llevaron a cabo sobre los gallos fueron los siguientes:

- **Peso de los gallos.**
- **Peso de los testículos.**
- **Extracciones de sangre.**

Para el peso de los gallos se utilizó un dinamómetro marca SALTER de 10 Kg y para el peso de los testículos, un báscula de precisión marca KERN 440-47N con un máx 2.000 g desviación 0,1 g.



*Foto 4 Detalle de báscula Salter*



*Foto 5 Peso de gallos*



*Foto 6 Muestras sangre*



*Foto 7 Detalle báscula*

### 3.3.2 Pruebas histológicas.

Los testículos se procesaron en la facultad veterinaria de la Universidad Complutense de Madrid donde se analizaron los siguientes parámetros histológicos.

- Media diámetro tubular en mm.
- Media espermátidas libres en luz tubular.

Los datos fueron analizados estadísticamente con el programa SPSS versión 10.0

La tinción de los testículos se realizó por el método de hematoxilina-eosina.

La medición del tubo se realizó directamente con un ocular milimetrado midiendo el diámetro transversal de los túbulos.

El número de espermátidas libres se contabilizó directamente sobre la muestra.

### 3.3.3 Valores hormonales.

Se midieron los siguientes valores en los sueros.

- Estradiol 17-Beta (PG/ML)
- Testosterona (NG/ML)

La técnica que se utilizó para obtener los valores de las hormonas fue la de quimioluminiscencia, utilizando el equipo INMULITE1000

Con el dato hormonal e histológico de los testículos se intentó conocer el estado de fertilidad de los machos del lote.

## 3.4 CONTROLES EN POLLITOS

### 3.4.1 Pruebas en Sala de incubar

Cada 6 semanas se sacrificaron de manera aleatoria 15 pollitos de cada nave, tomando los siguientes datos:

- Peso del pollito.
- Peso del hígado.
- Peso de corazón.
- Glucosa en sangre.
- Peso del vitelo.
- Extracción de sangre

El sacrificio de los pollitos, así como el control de los pesos se realizó siempre por la misma persona.

| EDAD | Nº DE ANIMALES |
|------|----------------|
| 28   | 15             |
| 33   | 15             |
| 40   | 15             |
| 47   | 15             |
| 54   | 15             |

*Tabla 5 Semana y número de pollitos sacrificados ( Fuente Propia)*

El pesaje de las vísceras y de los pollitos se realizó con una bascula de precisión modelo KERN 440-47N con un máx 2.000 g desviación 0,1 g.

Los sacrificios al igual que los gallos se realizaron mediante CO<sub>2</sub>.

#### 3.4.2. Pruebas en sangre.

De la sangre extraída de los pollitos se realizaron las siguientes valoraciones enzimáticas

- GOT(ul/I)
- GPT ( ul/I) ( transaminasa )
- CK ( creatinquinasa)
- ALP(mu/ml) ( fosfatasa alcalina )
- LDH ( Lactato hidrogenasa )

En estas determinaciones se utilizó el sistema ADVIA 2400

Las 2 primeras son enzimas hepáticas, que determinan daños en el tejido hepático. Para la determinación de estas enzimas se utilizó el método IFCC modificado.

Las 3 siguientes son enzimas tisulares cuya valoración nos permite medir niveles de destrucción de tejidos, básicamente en tejido hepático y cardiaco.

### 3.5 CONTROLES EN PRODUCCIÓN

En este caso se controló los pollitos nacidos del lote control y los pollitos nacidos del lote tratamiento. Para ello en las granjas con un 100 % de pollitos procedentes del lote tratamiento o del lote control, se contabilizaron las bajas de la primera semana de vida.

Los datos fueron proporcionados por el controlador de la zona. Este dato nos permitiría valorar el nivel de eficacia de la transmisión vertical de los antioxidantes al pollito.

Los datos obtenidos se sometieron al análisis de varianza de una ANOVA simple con el programa STATGRAPHICS (Plus versión 5.1). Se consideró que había diferencias estadísticas significativas cuando la probabilidad era inferior a 0,05 ( $p < 0,05$ ).

### 3.6 MEDICION DE POTENCIAL DE OXIDACIÓN EN HUEVOS INCUBABLES

Se analizan 2 lotes de 30 huevos incubables de la nave control y 30 huevos de la nave con tratamiento para la medición de la evolución de la oxidación (estimada mediante la concentración de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico, TBARS) mediante la inducción in vitro de huevos a los 5 días de puesta y a los 35 días de puesta.

### 3.7 MEDICION DEL POTENCIAL DE OXIDACIÓN EN HIGADOS DE POLLITOS DE UN DIA

También se analizaron 30 hígados obtenidos de los pollitos sacrificados de la nave control y 30 de la nave con tratamiento para la medición de la evolución de la oxidación (estimada mediante la concentración de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico, TBARS) mediante la inducción 'in vitro' de hígados.

En ambos casos los datos se analizaron utilizando la aplicación estadística SAS versión 9. Para medir las diferencias en la oxidación entre tratamientos con el tiempo de incubación se utilizó un test de medidas repetidas. Los datos se presentan como la media del tratamiento en función del tiempo.

#### 4.RESULTADOS Y DISCUSION

##### 4.1 ANALÍTICA DE MUESTRA DE PIENSOS.

Para controlar que el nivel de inclusión de la cantaxantina era el adecuado se analizó su % en los piensos. Ya que los análisis de los otros parámetros de calidad y composición del pienso se realizaron por la empresa suministradora del pienso en sus instalaciones. Los análisis de la cantaxantina ( realizados por DSM nutritional products) dan los siguientes resultados.

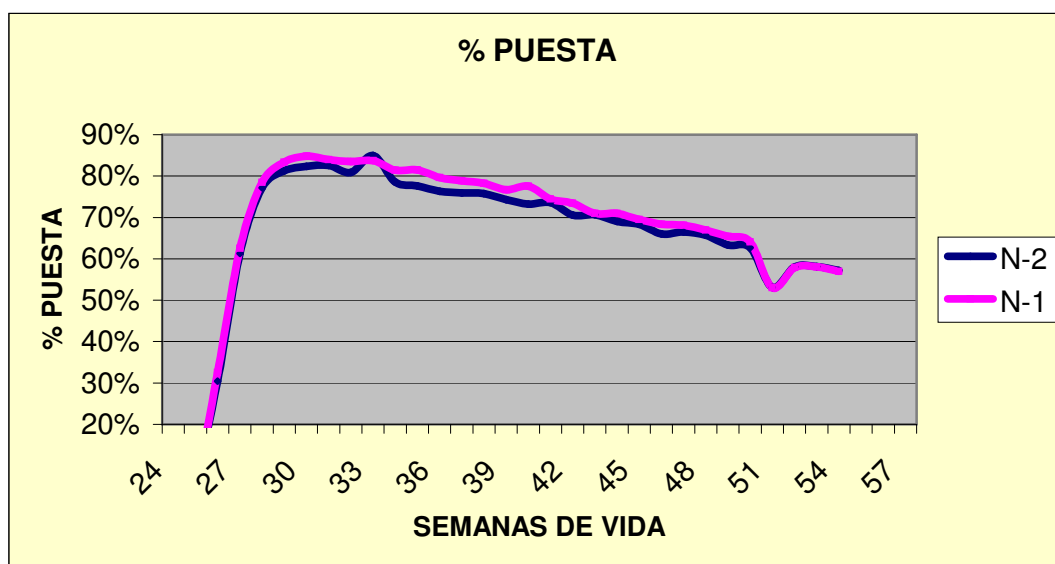
| FECHA | RP 16     | RP 16 PLUS |
|-------|-----------|------------|
| 10/07 | < 0,5 ppm | 5.9 ppm    |
| 11/11 | < 1 ppm   | 6.4 ppm    |

Tabla 6 Análisis de piensos( Fuente DSM nutritional products)

##### 4.2 RESULTADOS ZOOTÉCNICOS EN EL LOTE DE REPRODUCTORAS

###### 4.2.1 Resultados en el número de huevos incubables.

Para el cálculo de este dato se divide el total de huevos incubables producidos en cada nave ( huevos aptos para incubar) por las gallinas al final de cada semana presentes en cada una de las naves Después de las 32 semanas de producción los resultados obtenidos de las dos naves son los siguientes.



Gráfica 2 Datos de puesta. ( Fuente Elaboración propia)

A nivel zootécnico el dato que se maneja para conocer la producción total es el total de huevos incubables/ ave alojada (gallinas presentes en al final de la semana 25) en este estudio,

el total de huevos incubables por cada gallina al final de la semana 25 en cada una de las naves fue:

| CONTROL | TRATAMIENTO |
|---------|-------------|
| 120,16  | 121,89      |

Tabla 7 Total de huevos incubables/ave alojada( Fuente Elaboración propia)

Esta diferencia tanto en puesta semanal, como en total de huevos incubables por gallina al final de la semana 25 puede ser debido a diversos factores entre ellos la inclusión de cantaxantinas.

#### 4.2.2 Porcentaje de nacimiento

Otro dato a controlar ha sido el número total de pollitos por cada 100 huevos incubados, durante 21 días. Los resultados fueron los siguientes.

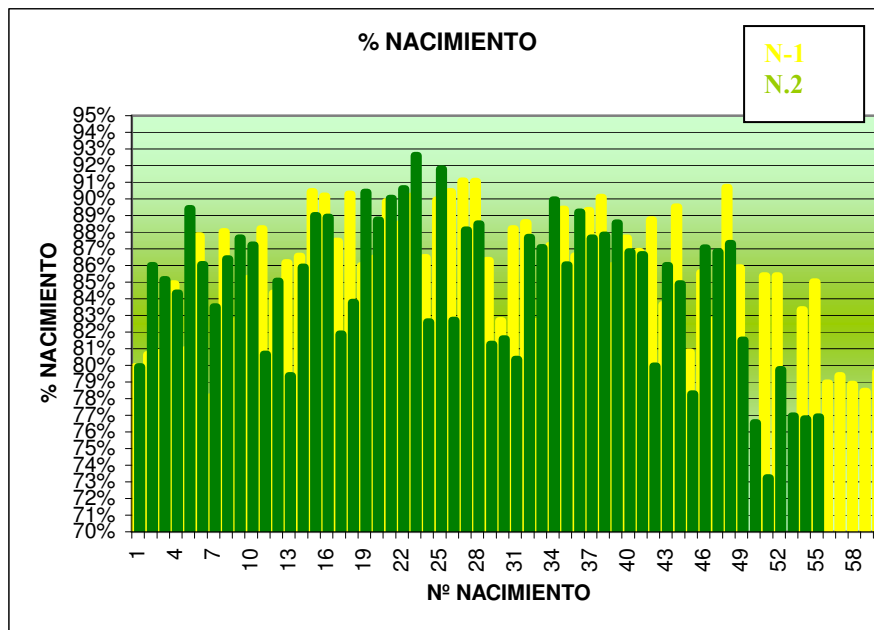


Gráfico 3 Curva de nacimiento ( Fuente Elaboración propia)

Se obtuvo el siguiente dato de nacimiento y el consiguiente número de pollitos por cada nave

| % NACIMIENTO |        | H.I/ AVE ALOJADA |        | TOTAL POLLITOS DE 1 DIA |        |
|--------------|--------|------------------|--------|-------------------------|--------|
| N-1          | N-2    | N-1              | N-2    | N-1                     | N-2    |
| 85,49%       | 84,75% | 124,88           | 123,22 | 106,77                  | 104,43 |

Tabla 8 Resumen datos zootécnicos ( Fuente Elaboración propia)

Al igual que ocurre con el dato de la producción de H.I /ave alojada, el número de pollitos producidos por un lote, es un factor multivariable. Las condiciones de manejo y equipamiento en ambos lotes se homogeneizaron todo lo posible. Las gallinas y los machos se recriaron en la misma explotación, se alojaron en dos naves iguales controlados por el mismo granjero y con el mismo equipamiento. Hay otras variables, como manejo en la sala de incubar o las condiciones ambientales en las naves, que no se pudieron controlar. Por tanto aunque la diferencia en total de pollitos de un día es importante y a nivel económico rentable, no se podría concluir que es únicamente debido a la cantaxantina. Pero si sería recomendable continuar estudiando en esta línea.

#### 4.2.3 Tamaño del huevo

Otro de los datos que queríamos controlar para conocer la influencia de las cantaxantinas es el posible efecto que tiene sobre el tamaño del huevo incubable, ya que en los numerosos estudios (*Catherin Hamelin and col, 2005*) realizados no compararon resultados de esta característica. Esto tiene una gran importancia, ya que la obtención de pesos de huevo mayores con un mismo consumo de pienso, es una ventaja muy importante sobretodo en la industria de puesta. La grafica con los datos obtenidos es la siguiente:

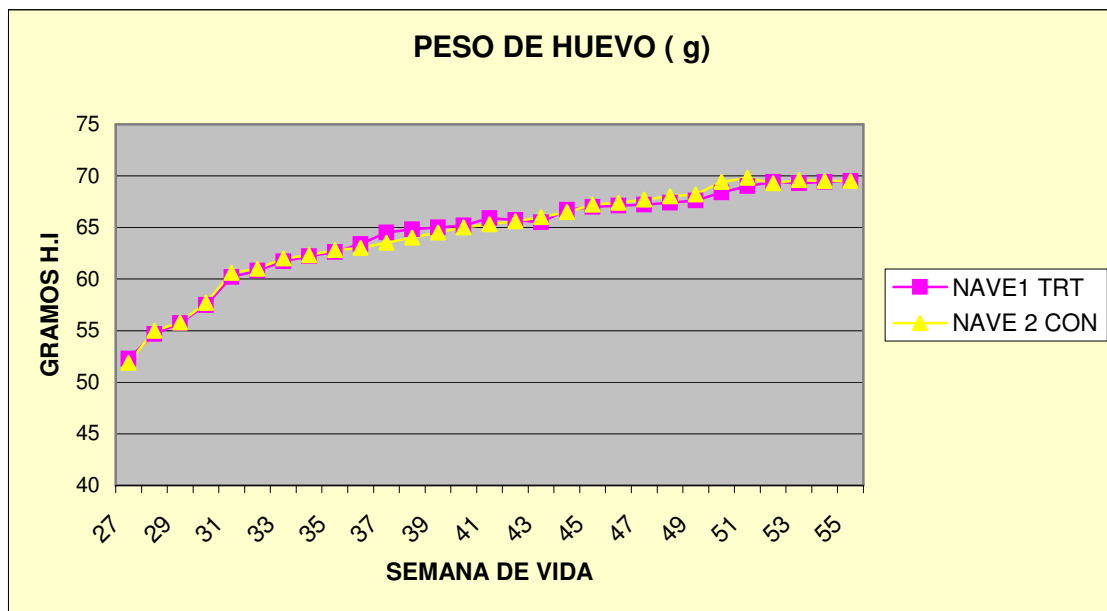


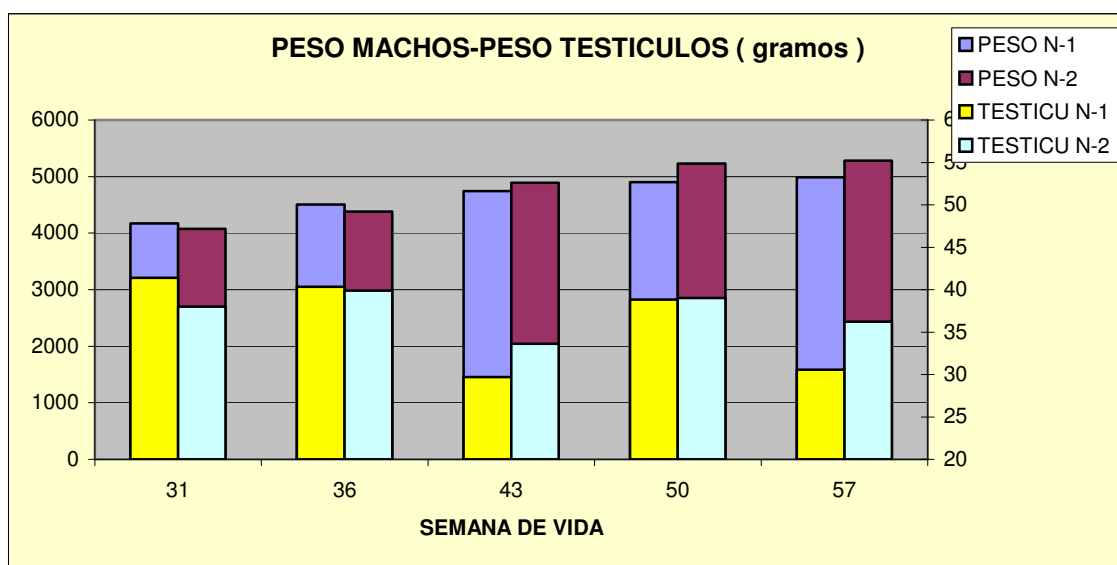
Gráfico 4 Peso del huevo incubable ( Fuente Elaboración Propia)

Después de las 30 semanas de control no se encontraron diferencias significativas entre los dos grupos.

#### 4.3 RESULTADOS SOBRE EL CONTROL DE LOS MACHOS

De los datos obtenidos de los diferentes muestreos realizados en el lote de machos objeto del estudio pasamos a discutir aquellos más relevantes.

##### 4.3.1 Análisis del peso de los gallos y el tamaño de los testículos:



Gráfica 5 Peso de los gallos y de los testículos ( Fuente Elaboración propia)

Como se observa en la grafica la relación entre el tamaño de los testículos y el peso de los gallos sigue la tendencia observada en otros estudios. En ellos el peso de los gallos sigue una curva ascendente, mientras que los testículos alcanzan un pico en las primeras semanas de desarrollo sexual reduciéndose el tamaño, con el aumento de la edad de los animales.

La media de testículos mas pesados se corresponde a los machos mas pesados de cada uno de los grupos. Como era de esperar debido a las condiciones de manejo, la diferencia de pesos entre los machos de ambas naves, no fue muy importante, así como, la diferencia de las medias de los pesos de los testículos de los machos. Ya que en ambos casos las raciones de piensos suministrados fueron las mismas y el efecto antioxidante de la cantaxantina, no ha demostrado que influya de ninguna manera en los pesos de los gallos.( Robert, M. Panheleux-le Bastard, 2005)



*Foto 8 Gallos con sus testículos*



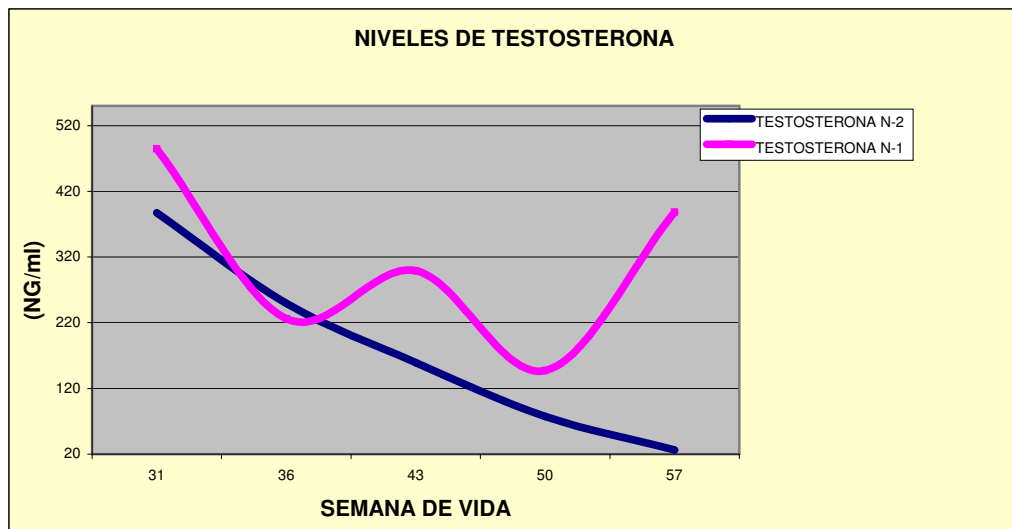
*Foto 9 Pesaje de testículos y preparación de muestras.*

#### 4.3.2 Análisis hormonal en las muestras séricas

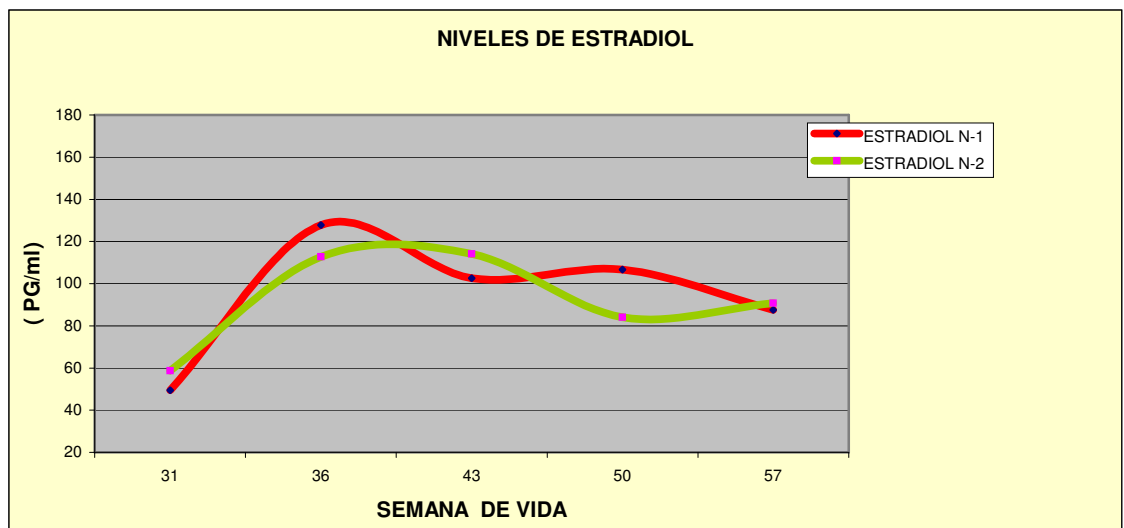
Como se describió en el apartado de materiales y métodos se analizaron dos hormonas sexuales.

- Estradiol 17-Beta (PG/ML)
- Testosterona (NG/ML).

Intentado establecer la existencia de diferencias entre los niveles y el comportamiento de la hormonas sexuales entre ambos grupos.



Gráfica 6 Nivel de testosterona en sueros ( Fuente Elaboración propia)



Gráfica 7 Niveles de estradiol en sueros ( Fuente Elaboración propia)

El objetivo era buscar algún comportamiento anómalo en la evolución de las hormonas, para poderlo relacionar con la ingesta del pienso con cantaxantinas, ya que en toda la bibliografía revisada para preparar este trabajo no encontramos ninguna referencia al estudio del comportamiento hormonal. En este caso no observamos ningún comportamiento que podamos relacionar con el efecto protector del antioxidante. Únicamente se observa un comportamiento errático de la testosterona del grupo con cantaxantina, respecto al grupo control, que evoluciona disminuyendo con el tiempo como era de esperar.

#### 4.3.3 Análisis de los cortes histológicos de los testículos.

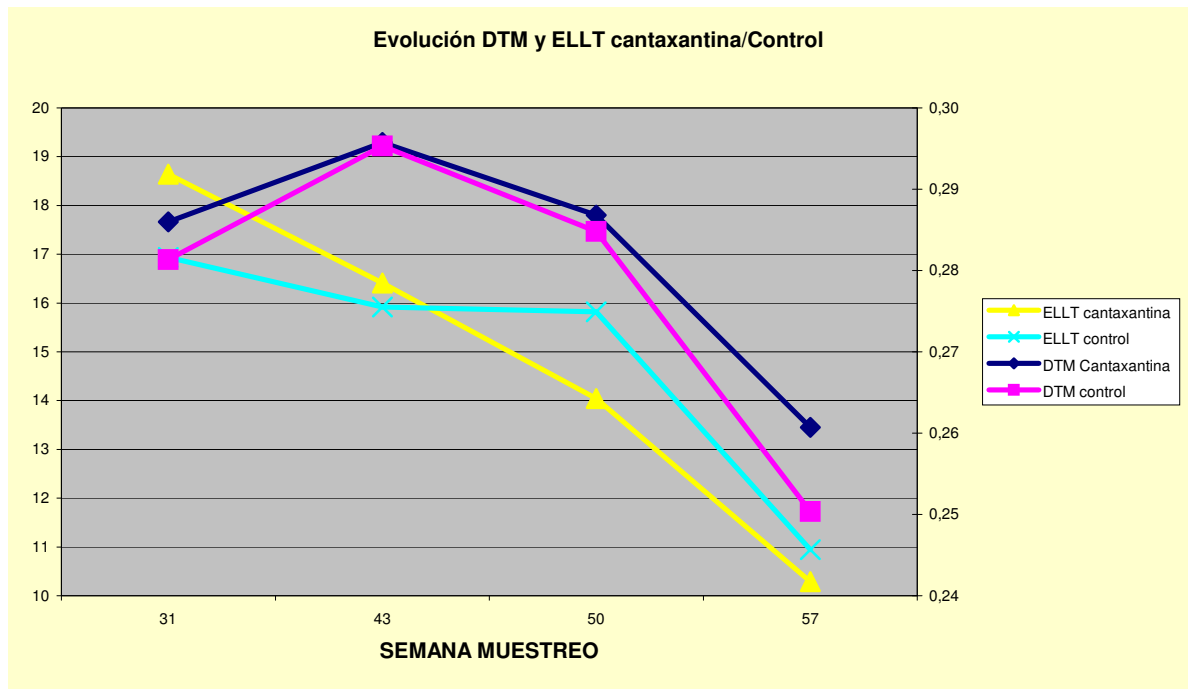
Con el objeto de conocer el posible efecto que podría tener las cantaxantinas en el tejido testicular y en células que lo forman, se evaluaron en cada una de las semanas diversos cortes histológicos de los testículos obtenidos tanto en la nave tratamiento como en la control:

| Semanas                                 | 31 sem |         | 43 sem |         | 50 sem |         | 57 sem |         |
|-----------------------------------------|--------|---------|--------|---------|--------|---------|--------|---------|
|                                         | Canta  | Control | Canta  | Control | Canta  | Control | Cantax | Control |
| Media diámetro tubular mm               | 0,29   | 0,28    | 0,30   | 0,30    | 0,29   | 0,28    | 0,26   | 0,25    |
| Media espermátida libres en luz tubular | 18,64  | 16,93   | 16,41  | 15,92   | 14,04  | 15,82   | 10,29  | 10,95   |
| Desv std diámetro                       | 0,03   | 0,02    | 0,02   | 0,01    | 0,01   | 0,01    | 0,03   | 0,02    |
| Desv std espermátida                    | 9,12   | 10,25   | 7,01   | 3,77    | 1,84   | 4,28    | 2,64   | 3,00    |

Tabla 9 Datos estudio histológico testículos (Fuente Elaboración Cobb española s.a)

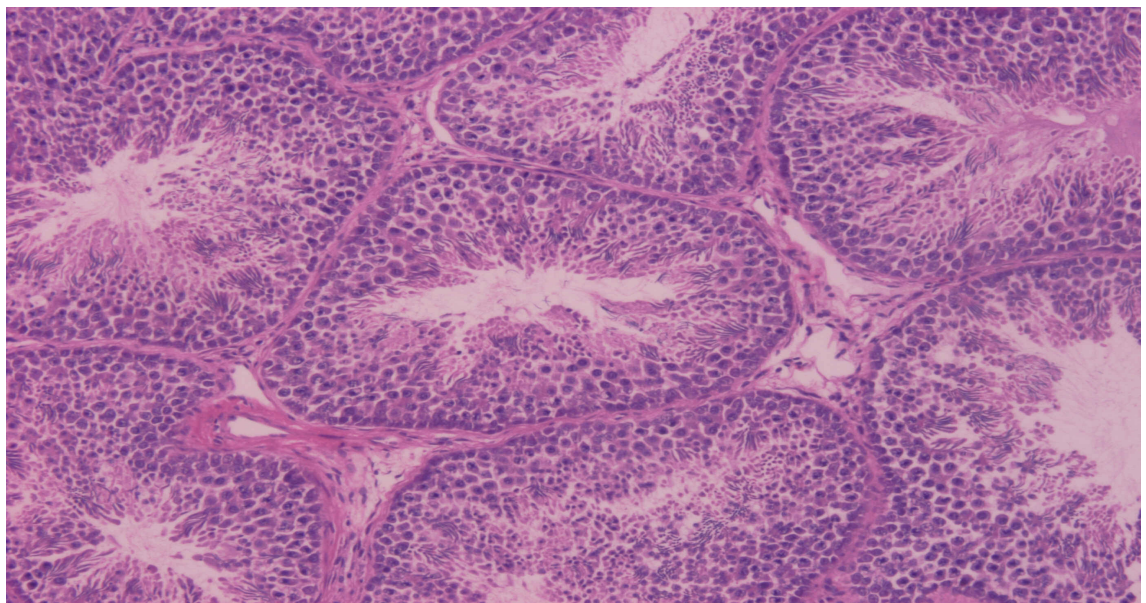
Después de analizar los datos estadísticamente no existen diferencias significativas, entre los dos tratamientos respecto a las medidas Diámetro Tubular Medio y Espermátidas Libres en Luz Tubular ya que en ambos casos  $p > 0,05$ .

Aunque no hay diferencias significativas en el valor medio del Diámetro Tubular Medio por grupos, el grupo de cantaxantina presenta en todas las edades mayor tamaño por lo que sería preciso mayor volumen de muestra para observar diferencias estadísticamente significativas.



*Gráfica 8 Evolución ETT y DTM (Fuente Elaboración Cobb española s.a)*

Histológicamente no hay diferencias. Como era de esperar se aprecia un envejecimiento fisiológico en ambos tratamientos, lo que se observa en una reducción paulatina del diámetro tubular y el número de espermátidas libres con la edad. Por tanto se concluye que parece que la inclusión en las raciones de cantaxantinas no tiene ninguna influencia en la morfología y composición celular del testículo.



*Foto 9 Corte histológico de testículo (Fuente Elaboración Facultad Veterinaria Univ Complutense de Madrid)*

#### 4.4 RESULTADOS SOBRE SU PROGENIE

##### 4.4.1 Resultados obtenidos en pollito de un día

Como hemos descrito en el apartado de materiales y métodos se ha realizado una toma de datos tanto a nivel de pesos de órganos internos, como de muestras serológicas.

De los diferentes datos obtenidos los más significativos son los siguientes:

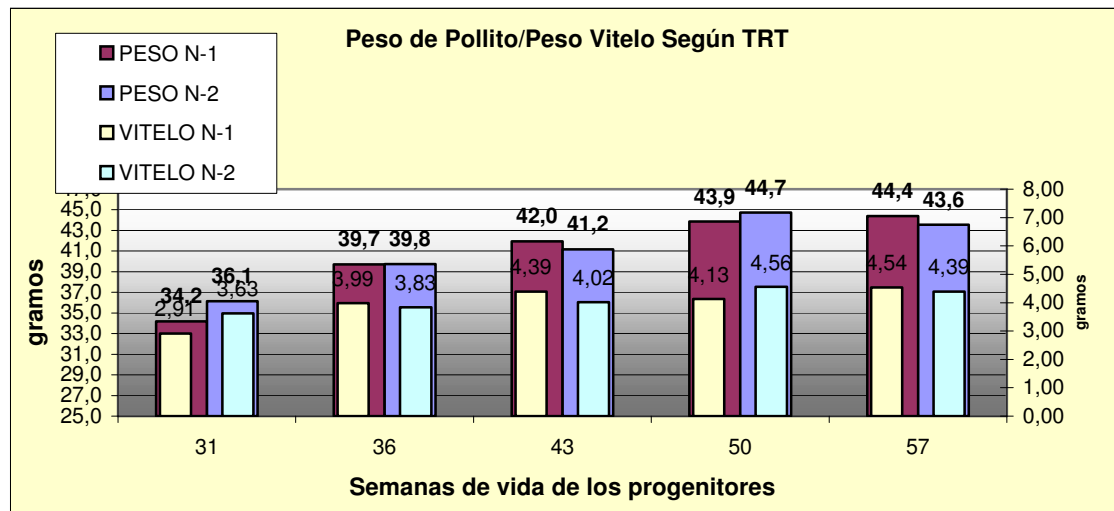


Gráfico 9 Peso pollito/ Peso vitelo

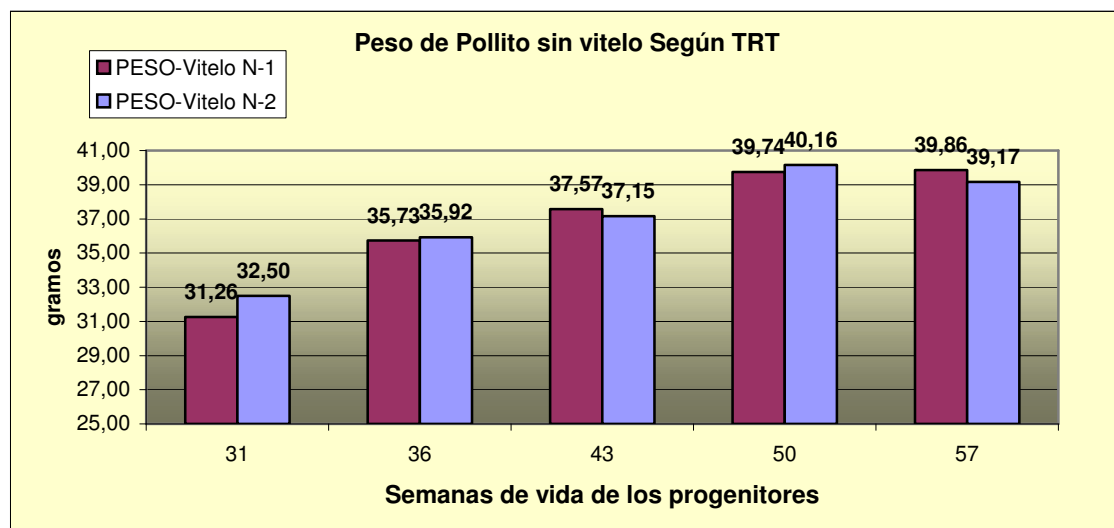


Gráfico 10 Peso pollito sin vitelo

En lo que respecta al peso del pollito del día y el peso de pollito en neto (restando el peso del vitelo) no se encuentra un efecto significativo del uso de las cantaxantinas.

Lo que sí que se observa es la relación entre animales más pesados y mayor peso de vitelo.

Este dato es importante porque que si que hay una relación entre menor porcentaje de vitelo respecto al peso total del pollito con mejor calidad de pollito de un día.

Pero tampoco parece que en esta variable haya un efecto significativo con el uso de las cantaxantinas.

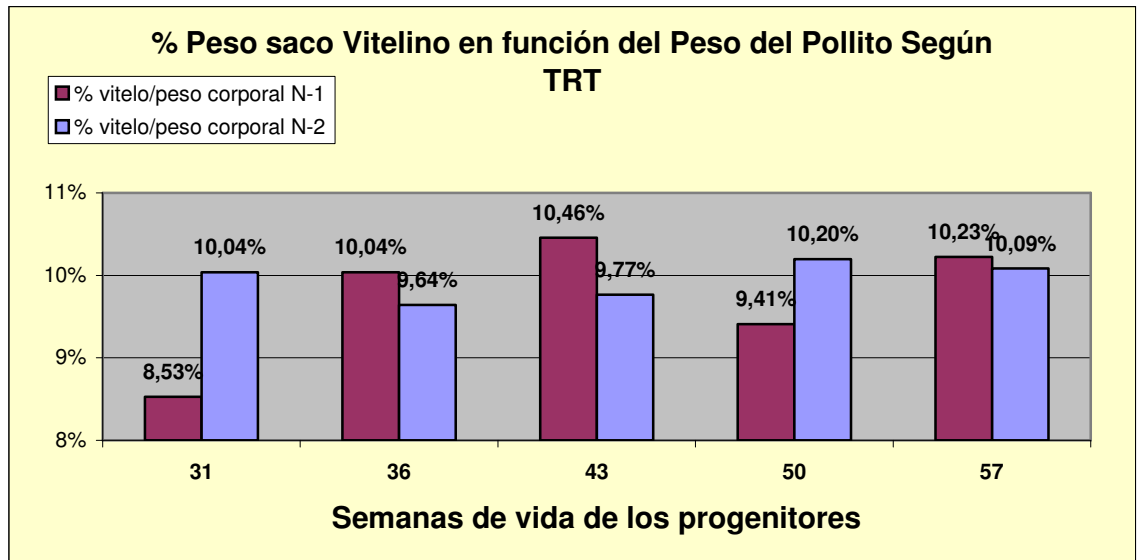


Gráfico 11 % Peso vitelo sobre peso total

Por último otro de los parámetros medidos en este muestreo es el nivel de glucosa en sangre. Para ello se utiliza un glucómetro marca ACU-CHEK AVIVA® de Roche para conocer el nivel de glucosa en las primeras horas después del nacimiento. Numerosos autores correlación los niveles elevados de glucosa con peores resultados de mortalidad en la primera semana de vida.( *Prado-Rebolledo and col*). Además estos estudios han relacionado el nivel de glucosa en sangre con el estrés del pollito en las horas previas al nacimiento. Los resultados de nuestro estudio son:

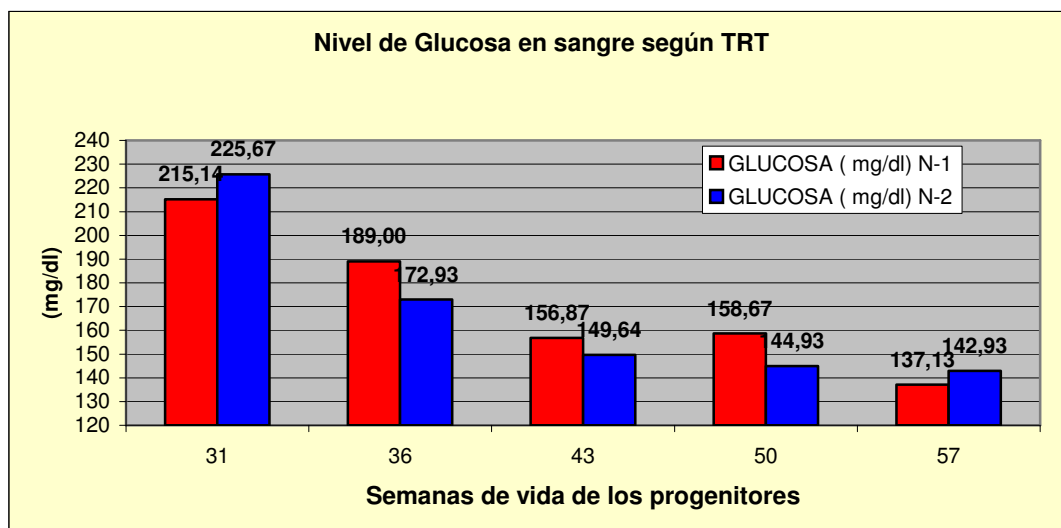


Gráfico 12 Nivel de glucosa en sangre de pollito de un día

Como se puede observar en la gráfica, los niveles de glucosa cambian claramente con la edad. Los niveles de glucosa van disminuyendo conforme aumenta la edad de los progenitores. Si relacionamos los niveles de glucosa con la curva de nacimiento del lote, los niveles bajan conforme aumenta el % de nacimiento ( excepto en semana 57). Pudiéndose relacionar niveles bajos de glucosa, con mejores resultados de nacimiento.

En cualquier caso creemos que el estudio de los niveles de glucosa podría ser una buena herramienta para intentar objetivar la calidad del pollito de 1 día.

#### 4.4.2 Pesos de vísceras:

En lo que respecta a los pesos obtenidos de las muestras de vísceras de pollito de un día.

- Hígado.
- Corazón.

Los resultados no arrojan ninguna conclusión debido principalmente a la homogeneidad de los mismos, ya que en este experimento utilizamos una báscula poco precisa para obtener el peso de estos órganos.

#### 4.4.3 Resultados de las muestras de sangre en el pollito de un día

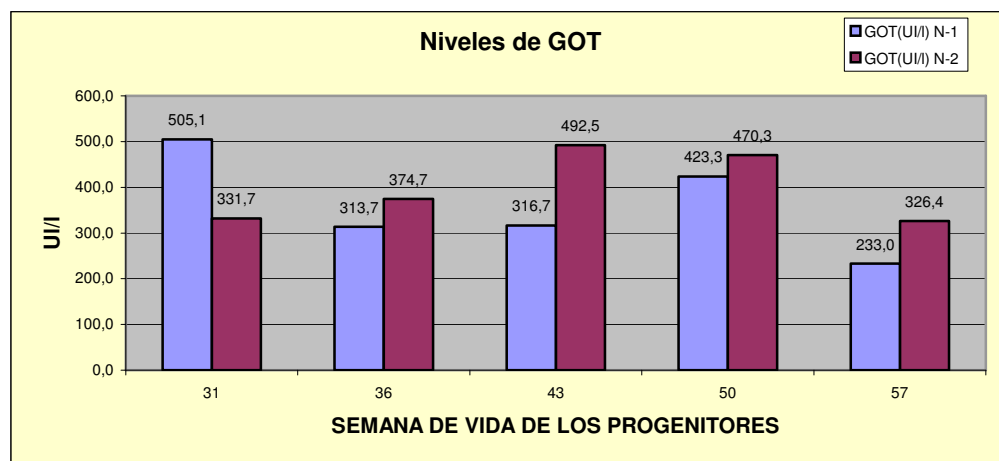
El análisis de las enzimas de las muestras de sangre de los pollitos las podemos dividir en dos partes.

- Resultados de las transaminasas.
- Resultados de las enzimas tisulares.

##### 4.4.3.1 Transaminasas.

Los niveles de transaminasas los podemos relacionar con daños hepáticos. Cuanto mas altos son los niveles de transaminasas detectados en sangre , mayor es la gravedad de la lesión hepática del individuo. Por tanto además de la glucosa otras de las variables que hemos estudiado para poder relacionar esta protección antioxidante y las cantaxantinas. Es el nivel de las 2 transaminasas:

- GOT
- GPT



*Gráfico 13 Nivel de GOT en sangre (Fuente Elaboración propia)*

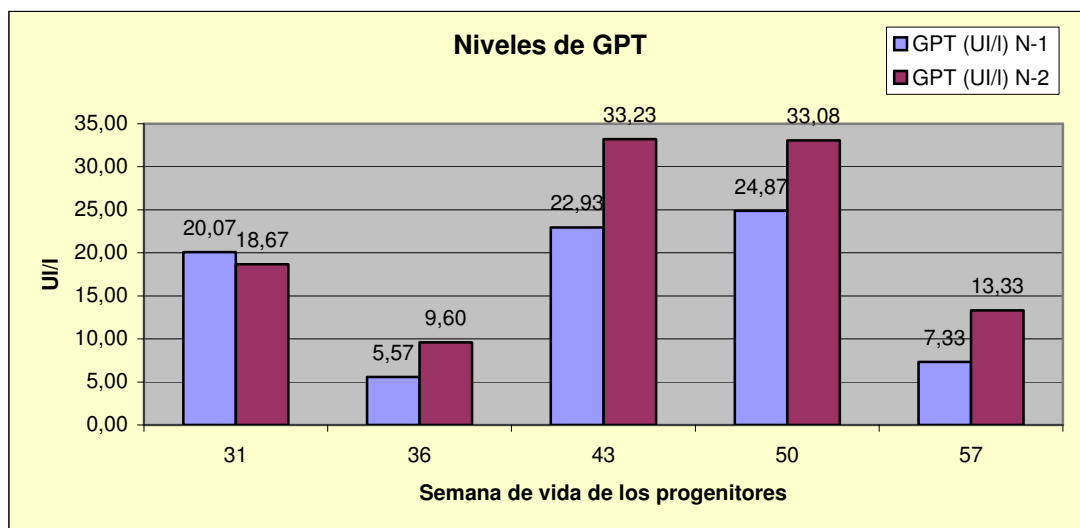


Gráfico 14 Nivel de GPT en sangre (Fuente Elaboración propia)

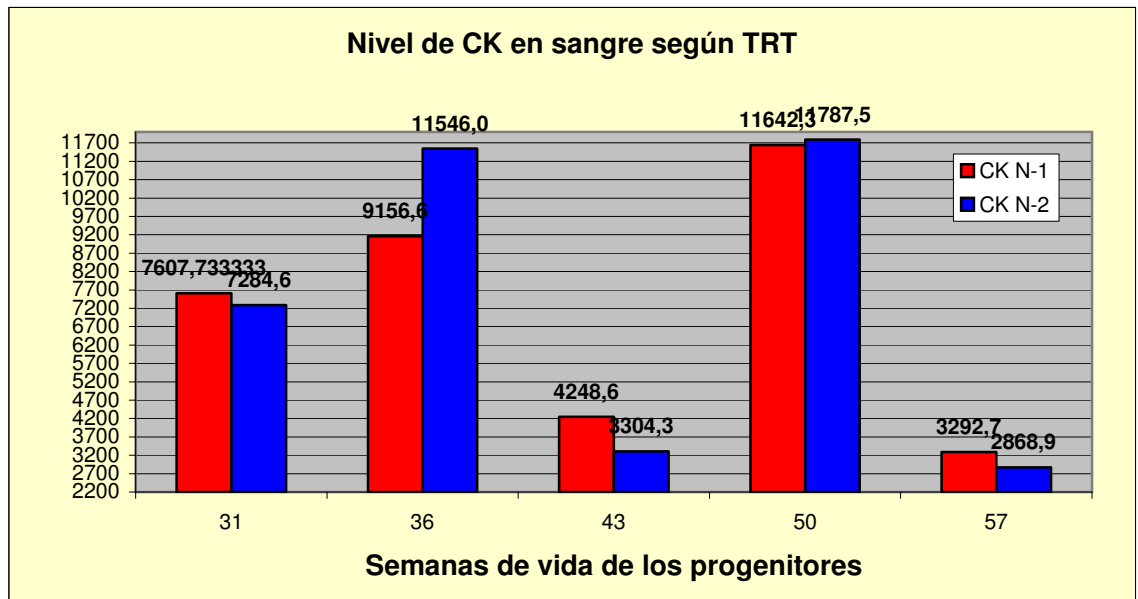
En este caso si parece que existen diferencias en los niveles de las transaminasas encontradas en la muestras enviadas al laboratorio.

En la mayoría de las semanas muestreadas el nivel de transaminasas en sangre de la muestra CONTROL es mayor que en las muestras TRATAMIENTO. Excepto en la semana 31 igual que ocurre en la glucosa debido posiblemente a que es demasiado pronto para ver una efectividad del 100 % en la transmisión de la cantaxantina.

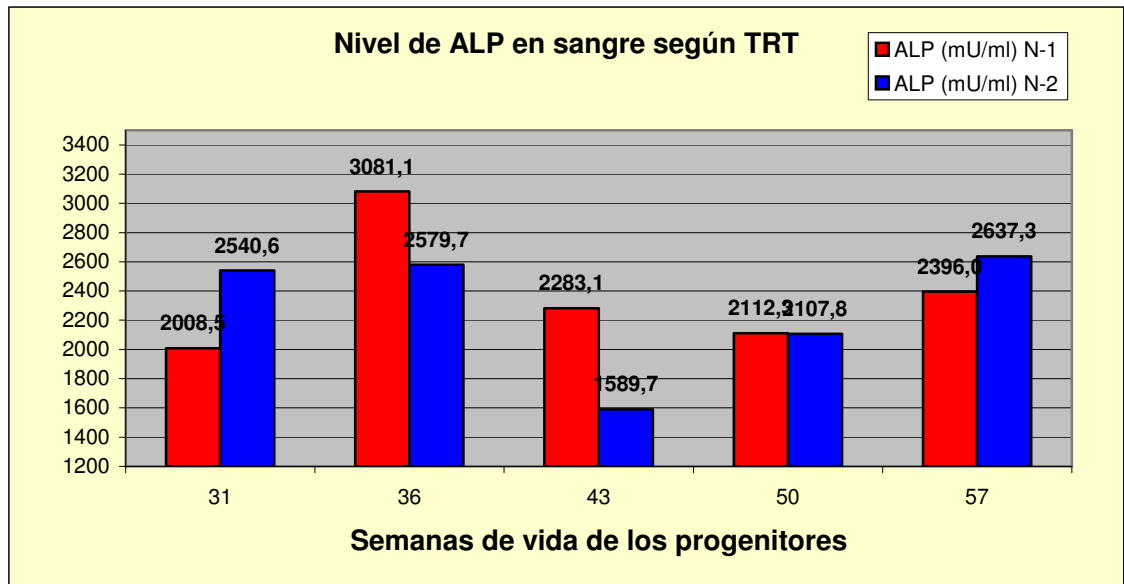
En este caso parece que la protección antioxidante transmitida verticalmente por la reproductora al pollito de 1 día tiene un efecto beneficioso, en la protección del hígado, contra posibles agresiones. Una de las razones por las que estos niveles de transaminasas son mas elevados, es posiblemente porque los pollitos control pueden usar el glucógeno hepático como fuente de obtención de glucosa, en mayor medida que los pollitos tratamiento, provocando un aumento en los niveles de transaminasas.

#### 4.4.3.2 Enzimas marcadoras de daño tisular

Con el control de este segundo grupo de enzimas intentamos complementar el estudio de las transaminasas, en este caso con varias enzimas cuyo aumento nos indica lesiones en tejido muscular, básicamente en tejido cardiaco.



*Gráfica15 Nivel de creatinquinasa (Fuente Elaboración propia)*



*Gráfico 16 Nivel de fosfatasa alcalina (Fuente Elaboración propia)*

A diferencia de los datos de los niveles de transaminasas, el estudio de los datos de estas enzimas no nos permite obtener ninguna conclusión del efecto de que tiene el uso de la cantaxantina en los piensos de reproductoras.

#### 4.5 EVALUACION DEL NIVEL DE OXIDACIÓN EN HUEVO INCUBABLE Y EN HIGADOS DE POLLITO DE 1 DÍA

Como última prueba de control para intentar medir el efecto de las cantaxantinas sobre los nivel de peroxidación de los tejidos se decide medir mediante la técnica TBARS la evolución de la oxidación lipídica en dos muestras diferentes.

- Huevos Incubables.
- Hígados de pollito de 1 día

Los resultados obtenidos en estas dos muestras son los siguientes

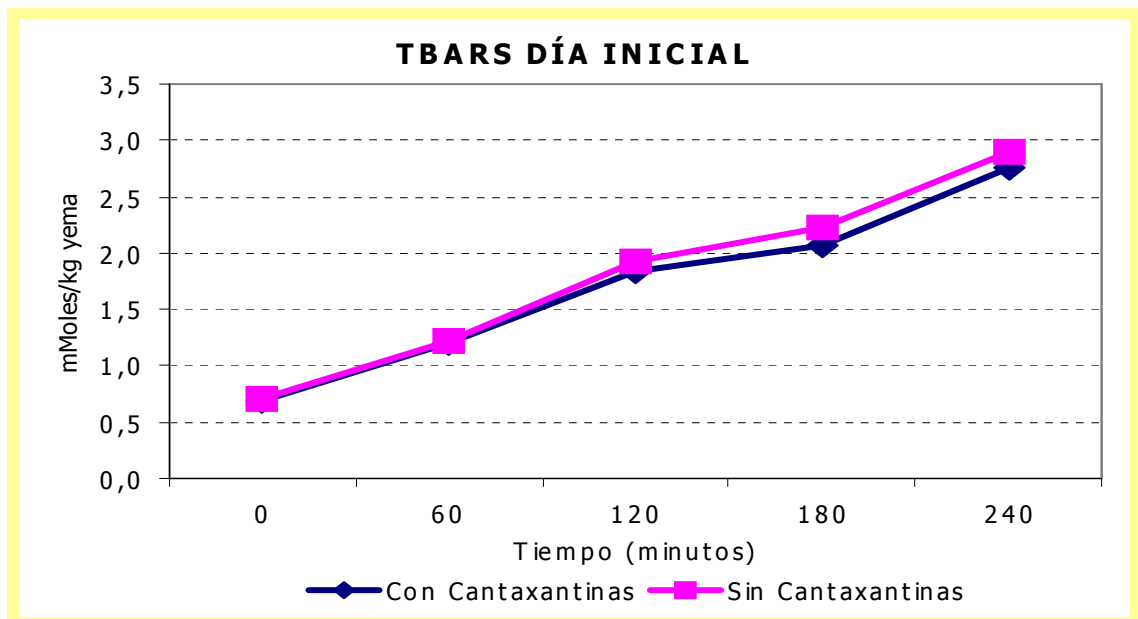
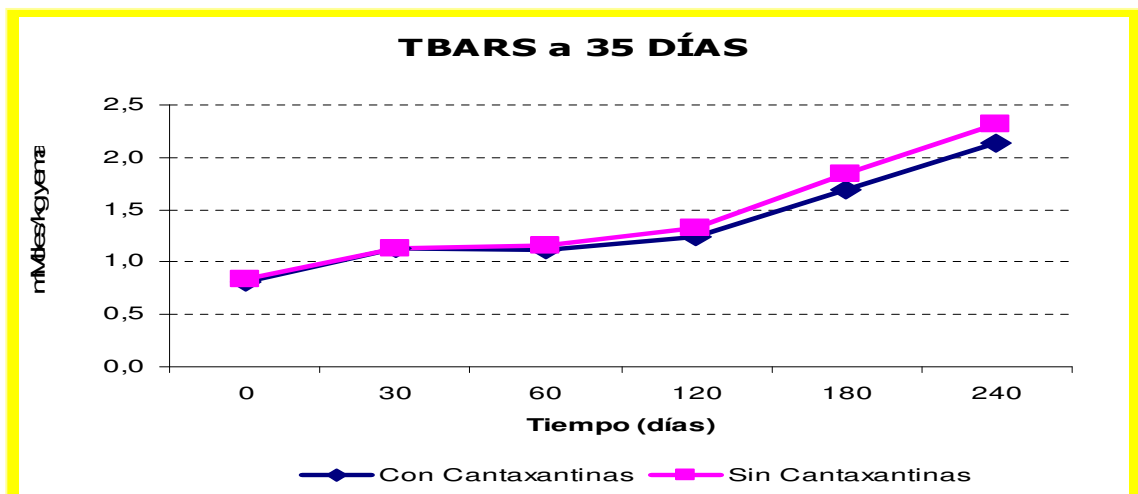
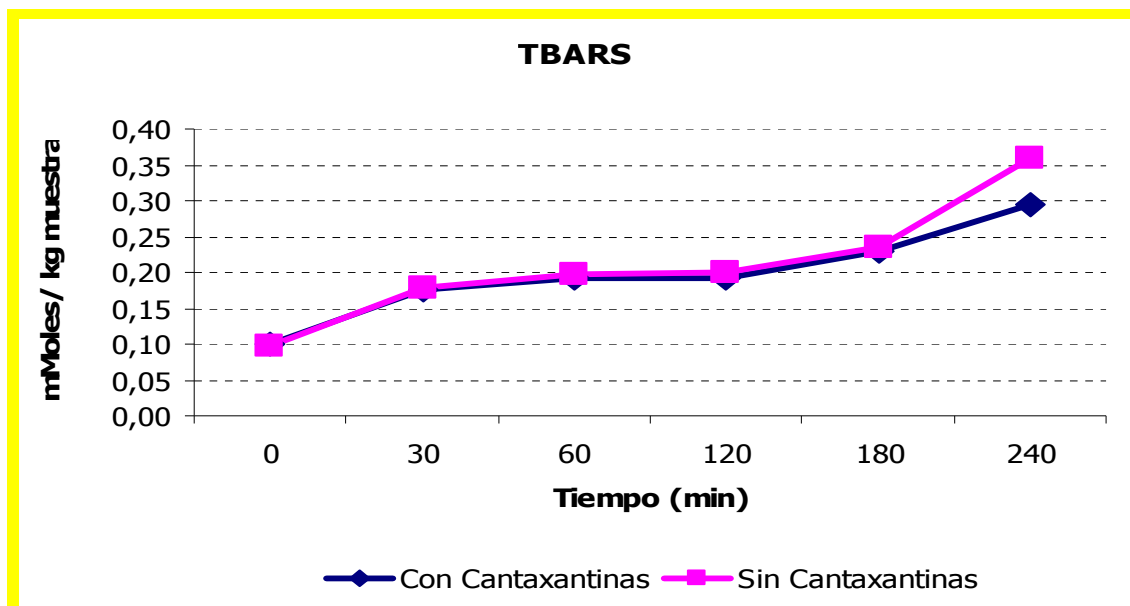


Gráfico 17 Nivel de oxidación en huevos incubables de 1 día de almacenaje  
(Fuente Elaboración Facultad Veterinaria Univ. Complutense de Madrid)



Gráfica 18 Nivel de oxidación en huevo a los 35 días de almacenaje. (Fuente Elaboración Facultad Veterinaria Complutense de Madrid.)



Gráfica 19 Nivel de oxidación en hígados de pollitos de 1 día.

(Fuente Elaboración Facultad Veterinaria Complutense de Madrid)

La administración de cantaxantinas en el pienso de aves a las dosis utilizadas modifica de forma significativa la peroxidación de la yema de huevo a los 35 días de conservación a temperatura ambiente. De forma que la suplementación produce un menor contenido en TBARS. En cambio esta diferencia no se observa en huevos con 1 día de almacenaje

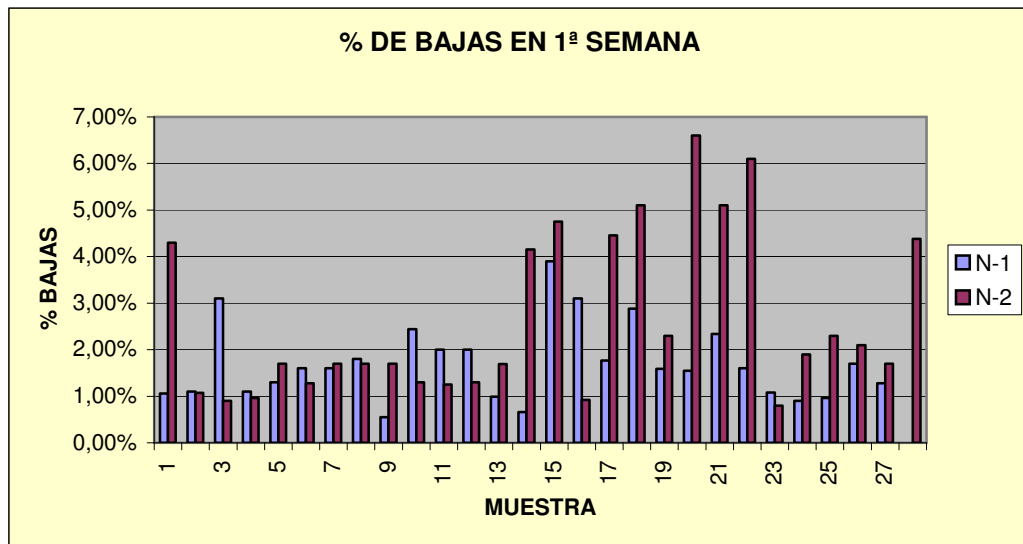
La peroxidación de los hígados de pollitos de 1 día nacidos de madres suplementadas con cantaxantinas en el pienso muestran una tendencia a presentar valores menores de TBARS y una respuesta a oxidarse de forma más lenta con el tiempo que aquellos que no son suplementados con cantaxantinas. Por tanto parece demostrado que aquellos hígados y huevos obtenidos del lote tratamiento sufren una menor oxidación con el aumento de la variable tiempo.

#### 4.6 RESULTADOS DE POLLITOS EN LA PRIMERA SEMANA DE VIDA

En este caso se buscó conocer el posible efecto positivo durante la primera semana de vida, que tiene la transmisión vertical de la protección antioxidante de la cantaxantina (*J.m Hernández et al. 2008.*) Para ello analizamos los resultados, en mortalidad de primera semana de granjas en las que se alojan lotes con un 100% de pollitos del lote tratamiento o 100% de pollitos del lote control. Los resultados que aparecieron fueron bastante interesantes obteniendo los siguientes datos.

|         | TAMAÑO MUESTRAL | POLLITOS ENTRADOS | BAJAS 7 DIAS |
|---------|-----------------|-------------------|--------------|
| CANTA   | 27              | 288530            | 1,25%        |
| CONTROL | 28              | 320885            | 2,63%        |

Como en el caso de los resultados obtenidos en la producción y reproducción del lote de puesta. En el valor obtenido en la mortalidad de primera semana, también participan muchas variables que no pudimos controlar. El tipo de nave, manejo de criador etc. Pero en este caso la diferencia entre el porcentaje de bajas entre ambos lotes es estadísticamente significativa con un valor de  $P = 0.0165$  ( $p < 0,05$ ).



Gráfica 20 % Bajas 1 semana en ambos grupos (Fuente Elaboración propia)

## 5.CONCLUSIONES

Las conclusiones obtenidas en el desarrollo de este estudio, las podemos dividir en tres partes. Las relacionadas con la primera parte del experimento y que tenían que ver con la información generada en producción y reproducción. Son muy interesantes. Aunque muy poco concluyentes respecto al efecto de la cantaxantina.

A pesar que los resultados zootécnicos del lote control, son peores que los obtenidos en el lote tratamiento (2,34 pollitos/ ave alojada) y que el retorno económico de estos resultados podría compensar el coste de suplementar el pienso con las cantaxantinas. La causa ultima de estos resultados no podemos concluir que es únicamente por la suplementación del piensos con las cantaxantinas. Ya que hay muchos otros efectos que pudieron influir en la diferencia existente entre ambos grupos.

Pero por otra parte la pruebas realizadas para estudiar la viabilidad de la progenie han relevado unos resultados muy positivos. Los valores medios, de la GOT y GPT en el lote de tratamiento son sensiblemente inferiores al lote control lo que demuestra un menor nivel de daño hepático .Además la prueba del TBARS demostró que los perfiles de oxidación del lote tratamiento son más lentos en el tiempo que los del lote control (prueba medida precisamente en el hígado).

Con estas dos pruebas pudimos concluir que la cantaxantina, tiene la capacidad de acumularse en los tejidos del embrión en desarrollo, pasando de manera vertical del pienso ingerido por la madre, al pollito. Otorgando una protección extra a los tejidos, donde es capaz de acumularse, frente a los efectos de los radicales libres.

Con una diferencia estadísticamente significativa de  $P= 0.0165$ , el % de bajas en la primera semana de vida es el dato obtenido mas interesante de esta tesina. Esta diferencia entre el lote control y el tratamiento, nos permite afirmar que queda demostrado los efectos beneficiosos de la inclusión de cantaxantinas en piensos de reproductoras principalmente en los niveles de mortalidad en la primera semana de vida de la progenie.

**BIBLIOGRAFÍA**

- Avi Rosenstrauch, Simy Weil, A. Allan Degen *Leydig Cell Functional Structure and Plasma Androgen Level during the Decline in Fertility in Aging Roosters.*
- Ball Andrew and Hamelin Catherine *International Hatchery Practice.*
- Chen SW, Francis BM, Dziuk PJ *Effect of concentration of mixed-function oxidase on concentration of estrogen, rate of egg lay, eggshell thickness, and plasma calcium in laying hens.*
- Chen SW, Francis BM, Dziuk PJ. *Effect of estrogen on egg production, shell quality and calcium metabolism in molted hens.*
- Cortera souza, pa souza, rc souza, acrs neves. *Efeito da utilização de carophyll® red nos índices reprodutivos de matrizes de frangos.*
- Derek M. Anderson, Janice L. Maclassac and col *Evaluating the effects of crab meal, Carophyll Red in laying hen diets on egg yolk pigmentation and production performance.*
- Esteve Inma, 2009 WPSA, Zaragoza *Manejo de aves para optimizar la fertilidad.*
- Hamelin Catherin DSM Nutritional Products europa .*Como mejorar la incubabilidad en reproductores y la calidad de pollito con CAROFIL® ROJO.*
- Hernández J M, Soto-Salanova M, Ibarra B.*Increased and improved chick.*
- Hocking PM, Robertson GW *Ovarian follicular dynamics in selected and control (relaxed selection) male- and female-lines of broiler breeders fed ad libitum or on restricted allocations of food.*
- Kormbrust and Mavis, 1980 *Relative susceptibility of microsomes from lung, heart, liver, kidney, brain and testes to lipid peroxidation: correlation with vitamin E content. Lipids.*
- Llaurado, Ll, Francesch, A., Hernández J.M and Brufau J (1997) *Effect of canthaxanthin supplementation on the hatchability of eggs of broiler breeders.*
- Prado-Rebolledo, O.F., Morales B.J.E, L.J.A. Quintana, A.M.J. González y M.J. Arce *Oxígeno adicional en incubación del pollo de engorde.*
- Robert F , Panheleux-le Bastard.M, Hamelin.C DSM Nutritional Products *Effects of canthaxanthin supplementation in the ross breeder diet on oxidative stress of chicks*
- Surai A.P., P.F Surai, W. Steinberg, W.G Wakeman, B.K Speak ( Septiembre 2003).*Effect of canthaxanthin content of maternal diet on the antioxidant system of developing chick .*
- Wikipedia. <http://www.wikipedia.com> Fecha de consulta 13/09/09