



UNIVERSIDAD DE CHILE

FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y PECUARIAS
ESCUELA DE CIENCIAS VETERINARIAS



EFFECTOS DE LA SUPLEMENTACIÓN DE FUENTES
ORGÁNICAS E INORGÁNICAS DE ZINC, MANGANESO Y
COBRE SOBRE LA PRODUCCIÓN, CALIDAD DEL HUEVO Y
RESPUESTA INMUNOLÓGICA EN GALLINAS, DURANTE EL
SEGUNDO CICLO DE POSTURA

JOSÉ LUIS RAMOS LUNA

Memoria para optar al Título
Profesional de Médico Veterinario
Departamento de Fomento de la
Producción Animal.

PROFESOR GUÍA: SERGIO CORNEJO V.

SANTIAGO, CHILE
2005



UNIVERSIDAD DE CHILE

FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y PECUARIAS
ESCUELA DE CIENCIAS VETERINARIAS



EFFECTOS DE LA SUPLEMENTACIÓN DE FUENTES ORGÁNICAS E INORGÁNICAS DE ZINC, MANGANESO Y COBRE SOBRE LA PRODUCCIÓN, CALIDAD DEL HUEVO Y RESPUESTA INMUNOLÓGICA EN GALLINAS, DURANTE EL SEGUNDO CICLO DE POSTURA

JOSÉ LUIS RAMOS LUNA

Memoria para optar al Título
Profesional de Médico Veterinario
Departamento de Fomento de la
Producción Animal.

NOTA FINAL:

		NOTA	FIRMA
PROFESOR GUIA:	SERGIO CORNEJO V.
PROFESOR CONSEJERO:	JAVIER GONZALEZ F.
PROFESOR CONSEJERO:	HECTOR HIDALGO O.

SANTIAGO, CHILE
2005

Este trabajo va dedicado a mis padres quienes me regalaron la oportunidad de llegar hasta este momento de mi vida (que pensé nunca llegaría). A mis amigos por su apoyo y amistad a prueba de balas. Y a todos mis compañeros estudiantes que luchan por superarse cada día, paso a paso en pos de un futuro mejor. ¡Vamos, el final del camino existe, sólo hay que persistir!

También esta dedicado a mi hadita pequeña, ya que su magia me dió fuerzas para seguir luchando en aquellos momentos en que creía todo perdido.

Hay que agradecer a muchas personas y me perdonaran si omito algunos nombres:

En primer lugar al Dr. Sergio Cornejo y sus invaluable consejos con los que me guió en esta etapa final de la carrera. También al Dr. Iñigo Díaz que me prestó ayuda en momentos complicados.

A mi compañero y amigo Ricardo. Availa BROS. Fué el mejor equipo de trabajo.

A Octavio “el terrible” y su invaluable ayuda. A Normita por su gran disposición. A las chicas del laboratorio: quienes siempre me ayudaron cuando las necesité.

A las chicas de Biblioteca: gracias por ser como son. A la tía Susi: “no te mueras nunca”.

Al chico Torres, a don Tulio, Currito, Campito, Juan Canales, al Sr. Varela, a la Ale, a todos los que hacen que la facultad funcione... muchísimas gracias.

INDICE

RESUMEN

SUMMARY

INTRODUCCION.....	1
REVISION BIBLIOGRAFICA.....	3
1. El ámbito nacional. Breve reseña.	3
2. Suplementación de dietas de gallinas de postura con minerales traza.	
Generalidades.....	5
2.1 Fuentes de minerales traza para la suplementación.....	5
2.1.1 Fuentes inorgánicas de Zn, Mn y Cu.....	5
2.1.2 Fuentes orgánicas de Zn, Mn y Cu.....	6
2.1.3 Minerales orgánicos. Definición.....	6
2.2 Requerimientos de Zn, Mn y Cu en aves.....	8
2.3 Biodisponibilidad de Zn, Mn y Cu en aves.....	9
3. Funciones de Zn, Mn y Cu en aves.....	10
4. Minerales y formación del huevo en aves.....	11
4.1 Aspectos generales de la formación del huevo.....	11
4.2 Efectos del Zn, Mn y Cu sobre la calidad del huevo.....	13
5. Sistema inmune de las aves.....	15
5.1 Aspectos generales.....	15
5.2 Efectos del Zn, Mn y Cu sobre la respuesta inmune.....	17
6. Pelecha forzada.....	19
6.1 Fisiología de la pelecha.....	20
6.2 Minerales traza y pelecha forzada.....	21

HIPOTESIS DE TRABAJO.....	22
OBJETIVOS.....	22
1. Objetivo general	
2. Objetivos específicos	
MATERIALES Y METODOS.....	23
1. Lugar, aves.	
2. Manejos.	
2.1 Distribución de las aves.....	23
2.2 Distribución de los tratamientos.....	23
2.3 Descripción de los tratamientos.....	24
2.4 Muda o pelecha forzada.....	25
3. Controles.	
3.1 Indicadores productivos.....	27
3.2 Indicadores de calidad interna y externa del huevo.....	27
3.2.1 calidad externa del huevo.....	27
3.2.2 calidad interna del huevo.....	28
3.3 Evaluación inmunológica.....	29
ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	30
RESULTADOS Y DISCUSION.....	34
1. Parámetros productivos.....	34
2. Indicadores de calidad de huevo.....	40
3. Respuesta inmune.....	54
CONCLUSIONES.....	62
BIBLIOGRAFÍA.....	64
ANEXO FOTOGRAFIAS	

RESUMEN

El presente estudio buscó medir y comparar los efectos de la suplementación de fuentes orgánicas e inorgánicas de zinc, manganeso y cobre en la dieta de gallinas de postura sobre la producción, calidad interna y externa del huevo y respuesta inmune, durante el segundo ciclo de postura, período comprendido entre las 65 a 84 semanas de edad de las aves (posterior a una pelecha forzada).

El estudio contempló la utilización de 140 gallinas Leghorn de la línea Hy-Line W-36 las cuales fueron distribuidas en 36 jaulas con 4 aves cada una. La dieta estándar se elaboró en base a maíz nacional, afrecho de soya, afrechillo de trigo y aceite vegetal. Esta dieta se suplementó en los 3 tratamientos de la siguiente manera: T1 o control (80 ppm de $ZnSO_4$, 80 ppm de $MnSO_4$ y 5 ppm de $CuSO_4$); T2 (80 ppm de $ZnSO_4$, 80 ppm de $MnSO_4$ y 5 ppm de $CuSO_4$ más 40 ppm de Availa Zn®, 40 ppm de Availa Mn® y 7 ppm de Availa Cu®); T3: (120 ppm de $ZnSO_4$, 120 ppm de $MnSO_4$ y 12 ppm de $CuSO_4$). La pelecha forzada se logró manejando la alimentación y las horas luz.

Los indicadores productivos medidos fueron: la producción de huevos (%) registrada diariamente y expresada como promedio semanal y el peso de huevos (g) registrado semanalmente. Las evaluaciones de calidad del huevo fueron de dos tipos: de registro diario (huevos trizados, quebrados, sin cáscara y sucios expresados como porcentaje) y de análisis mensual (gravedad específica, grosor de cáscara (mm), resistencia a la fractura (kg/cm²), deformación de la cáscara (mm), unidades haugh, color de yema y relación yema/albúmina para peso y volumen). La evaluación inmunológica se realizó midiendo el nivel de anticuerpos pre y post vacunación para Enfermedad de Newcastle (ENC), Bronquitis Infecciosa (BI) y *S. enteritidis* (SE) mediante test de Elisa (IDEXX®).

Los resultados indican que el indicador producción de huevos, no mostró diferencias significativas entre tratamientos ($P > 0.05$). El peso del huevo, mostró diferencias significativas ($P < 0.05$) entre tratamientos, donde el mayor peso corresponde a las aves del tratamiento 3, seguido por los tratamientos 1 y 2 respectivamente.

Respecto de la calidad externa del huevo, el indicador huevos trizados no mostró diferencias significativas ($p > 0.05$) entre tratamientos. Por el contrario, sí se obtuvieron diferencias significativas ($p < 0.05$) en los indicadores huevos sucios, huevos quebrados y huevos sin cáscara. Para huevos sucios, T2 fue el que tuvo los mayores porcentajes seguido de T1 y T3 respectivamente. No se encontraron diferencias significativas ($p > 0.05$) entre tratamientos para los parámetros gravedad específica, deformación de la cáscara, resistencia a la fractura, unidades haugh, color de yema, relación peso yema/albúmina, relación volumen yema/albúmina y grosor de cáscara.

Según lo esperado, hubo diferencias significativas ($p < 0.05$) en cuanto a tiempo de muestreo (pre y post vacunación) en todos los tratamientos para ENC, BI y SE. Sin embargo no se observaron diferencias significativas ($p > 0.05$) entre tratamientos para las respuestas inmunes evaluadas.

En el presente estudio no se evidenció una superioridad de los minerales incorporados en forma orgánica sobre los minerales inorgánicos. Si bien es cierto existe una mejora en algunos indicadores, esta situación podría deberse a un mayor nivel de incorporación suplementaria, independientemente del tipo de fuente mineral empleada.

Palabras clave: minerales orgánicos, Zinc, Manganeso, cobre, pelecha forzada, producción, calidad de huevo, inmunidad humoral.

SUMMARY

The present study was made to measure and compare the effects of the supplementation in the diet of laying hens with organic and inorganic sources of zinc (Zn), manganese (Mn) and copper (Cu) on the performance, internal and external egg quality and immune response, during a second cycle of egg production, between the 65 to 84 weeks of age (after a forced molt).

In this study, 140 Leghorn hens (Hy-Line W-36) were used, distributed in 36 cages with 4 birds each one. Layers were fed with a standard corn, soy bean, meal diet. This diet was supplemented in the 3 treatments as follows: T1 = control- (80 ppm of ZnSO₄, 80 ppm of MnSO₄ and 5 ppm of CuSO₄); T2 = (80 ppm of ZnSO₄, 80 ppm of MnSO₄ and 5 ppm of 40 CuSO₄ plus the addition of 40 ppm of Availa Zn®, 40 ppm of Availa Mn® and 7 ppm of Availa Cu®); T3 = (120 ppm of ZnSO₄, 120 ppm of MnSO₄ and 12 ppm of CuSO₄). Force molt was obtained by fasting the hens and modifying the photoperiod.

The performance indexes measured were: egg production (%) registered daily and expressed as weekly average and the egg weight (g) registered weekly. The egg quality evaluation was done in two ways: daily registered data : (cracked eggs, broken eggs, shell less eggs and dirty eggs expressed as percentage), and monthly analysis in laboratory : (specific gravity, shell thickness (mm), shell strength (kg/cm²), shell deformation (mm), haugh units; yolk color and yolk/albumen ratio for weight and volume).

An immunological evaluation was made measuring the level of antibodies pre and post vaccination against Newcastle Disease (NCD), Infectious Bronchitis (IB) and *S. enteritidis* (SE) using a commercial Elisa test (IDEXX®).

The egg production values did not show significant differences between treatments ($P > 0.05$). The egg weight, showed significant differences ($P < 0.05$).

between treatments, being the highest weight obtained by the birds of treatment 3, followed by treatments 1 and 2, respectively.

Respect to the external egg quality, the indicator cracked eggs did not show significant differences ($p>0.05$) between treatments. On the contrary, significant differences ($p<0.05$) between treatments were obtained for dirty eggs, broken eggs and shell less eggs. For dirty eggs, T2 had the highest percentage, followed by T1 and T3 respectively. The following indexes, did not show statistical differences between treatments ($p>0.5$): specific gravity, shell deformation, shell strength, Haugh units, yolk color and yolk/albumen ratio either for weigh and volume.

As expected, there were significant differences ($p<0.05$) in regard to sampling time (pre and post vaccination) in all the treatments for NCD, IB and SE. On the contrary, no significant differences ($p>0.05$) were observed between treatments for the evaluated antibodies responses.

The present study did not show benefits in the majority of the controlled indexes studied, for the organic minerals when compared with the inorganic forms. The only possible benefits obtained, were due to a dose effect and not to a form of supplementation.

Key words: organic minerals, Zinc, Manganese, Cooper, force molt, production, egg quality, humoral immunity.

INTRODUCCIÓN

Dentro de todo proceso pecuario, la alimentación es uno de los principales puntos a considerar. Es importante, entonces, conocer todos los aspectos de ésta para lograr el máximo beneficio productivo mediante una buena alimentación a mínimo costo. Aquí es donde entran a jugar factores como el tipo de insumo, su composición nutricional, el costo, la biodisponibilidad, etc.

Si bien es cierto que los organismos vivos necesitan de macronutrientes como proteínas, lípidos e hidratos de carbono, también es cierto que otros elementos nutricionales, como minerales y vitaminas forman parte de procesos metabólicos fundamentales.

La importancia de estos nutrientes en la nutrición y alimentación aviar y como su presencia o ausencia afecta los procesos productivos han sido ampliamente estudiados. En particular, algunos minerales traza tales como Zinc, Manganeso y Cobre participan en procesos fisiológicos tan variados como ser parte de procesos metabólicos específicos hasta participar en la generación de anticuerpos.

Hoy los investigadores han buscado la forma de hacer estos minerales más biodisponibles. Así como han logrado unirlos a partículas orgánicas esperando que esta nueva presentación sea más fácilmente asimilable por el organismo y se eviten o disminuyan por otra parte, los posibles efectos quelantes que ocurren en el lumen del sistema digestivo.

El presente estudio busca comparar el efecto de suplementar dietas de gallinas de postura comercial con estos minerales traza (Zn, Mn y Cu) en sus formas inorgánicas *versus* sus formas orgánicas (complejos metal aminoácido) sobre indicadores productivos, calidad de huevo y respuesta inmune, considerando la etapa desde una pelecha forzada hasta el término del segundo periodo productivo o segundo ciclo de postura.

Cabe destacar que este ensayo forma parte de un proyecto más amplio que se inició hace más de un año (64 semanas) con pollitas de un día de edad y se ha continuado hasta el presente.

REVISION BIBLIOGRAFICA

1. EL ÁMBITO NACIONAL. BREVE RESEÑA.

En el ámbito avícola nacional podemos encontrar dos sistemas productivos, la producción de carne de ave y la producción de huevos de consumo. Si bien es cierto estos sistemas son distintos en cuanto a su estructura, comparten un objetivo común el cual es obtener productos, carne y huevos, de óptima calidad nutricional para el hombre y en sistemas productivos lo mas eficientemente posibles (González, 2004).

La industria del huevo en Chile ha venido creciendo a un ritmo de 1,2% anual en los últimos 9 años. La existencia de gallinas en postura el año 2003, fue de 10.170.693 aves distribuidas desde la primera a la décimosegunda región. La mayor concentración de estas aves se encuentra en la región metropolitana con un 48% del total del país, seguida de la quinta región con casi un 20 % del total (Asohuevo, 2005).

El 2004 hubo una producción de huevos de aproximadamente 2.542 millones de unidades, lo que significa un consumo per cápita de casi 167 huevos/año. Esto nos sitúa en el tercer lugar dentro de Latinoamérica, sólo superados por México y Colombia, países con un consumo de 311 y 198 huevos per cápita, respectivamente (Asohuevo, 2005).

Actualmente, alrededor de un 50% de la producción de huevos en el país se realiza bajo sistemas intensivos de ambiente controlado, con automatización de la alimentación y la recolección de los huevos, clasificación computarizada de

éstos y empaque con materiales de excelente calidad. A pesar de esto y de la calidad nutricional (excepcional fuente proteica) que el huevo aporta, sufre una fuerte competencia por parte de otras fuentes de proteína como son la carne de ave, bovino y cerdo. Esto ha llevado a los productores a incentivar el consumo de huevo en la población. Se ha demostrado mediante estudios científicos que los huevos tienen poco efecto sobre el aumento de los niveles de colesterol plasmático en humanos y que no están relacionados con el riesgo de padecer enfermedades cardiovasculares desestimando antiguos mitos. Por otro lado se han hecho estudios demostrando la alta calidad proteica del huevo en comparación a fuentes como la leche, el pescado o la carne además de sus aportes vitamínicos, de minerales y de ácidos grasos esenciales (omega 3 y omega 6) que lo convierten en uno de los mejores alimentos de la naturaleza (González, 2004).

Respecto de los precios del huevo pagados al productor, lamentablemente los precios fluctúan bastante en el año por lo que la rentabilidad del negocio también varía. Estas fluctuaciones de precio son poco predecibles y limitan el desarrollo de la industria. Por lo tanto, logrando un aumento en el consumo de huevo en la población y una oferta mas acorde a la demanda se podrá disminuir estas variaciones tan marcadas en el precio (González, 2004). El presente estudio, por ejemplo, busca mejorar la calidad y productividad de las aves mediante el uso de insumos alternativos como son los minerales orgánicos incluyendo, en una memoria de título paralela, el estudio económico del uso de éstos.

2. SUPLEMENTACIÓN DE DIETAS DE GALLINAS DE POSTURA CON MINERALES TRAZA. Generalidades

El rol de los minerales traza en el incremento de la productividad en aves, está siendo cada vez más importante en los sistemas de producción de alto estrés. Los nutricionistas están entendiendo que los niveles y la fuente de minerales tienen un gran rol en la formulación de la dieta para optimizar la producción (Johnson y Fakler, 1998). Es así como normalmente en las dietas se adicionan premezclas minerales considerando la inclusión en estas de elementos traza.

2.1 Fuentes de minerales traza para la suplementación.

Los minerales traza Zn, Mn y Cu los podemos incorporar en las dietas ya sea como sales inorgánicas o como minerales quelados a un componente orgánico.

2.1.1 Fuentes inorgánicas de Zn, Mn y Cu

Según Ammerman *et al.*, 1995; las fuentes inorgánicas de Zn, Mn y Cu más comúnmente utilizadas en la formulación de dietas de aves son:

- **El Zinc (Zn)** es adicionado en sus formas de sulfato ($ZnSO_4$), carbonato ($ZnCO_3$), cloruro ($ZnCl_2$), y óxido (ZnO).
- **El Manganeso (Mn)** lo podemos adicionar como sulfato ($MnSO_4$), carbonato ($MnCO_3$), cloruro ($MnCl_2$) y óxido manganoso (MnO).

- **El Cobre (Cu)** puede adicionarse como sulfato (CuSO_4), cloruro (CuCl_2), óxido cuproso (CuO_2), óxido cúprico (CuO), carbonato (CuCO_3) y cloruro de cobre tribásico ($\text{Cu}(\text{OH})_3\text{Cl}$).

Las formas inorgánicas más utilizadas son los óxidos y los sulfatos.

2.1.2 Fuentes orgánicas de Zn, Mn y Cu.

El uso de formas orgánicas se basa en la teoría de que al ser más similares a las formas en que los minerales se presentan en el organismo, tienden a ser biológicamente más disponibles que los de origen inorgánico y por lo tanto más digeribles y absorbibles. Si los compuestos orgánicos son estables en el tracto digestivo, los minerales presentes en esta forma pueden protegerse de formar complejos con otros componentes dietarios que interferirían con su absorción (Dudley-Cash, 1997).

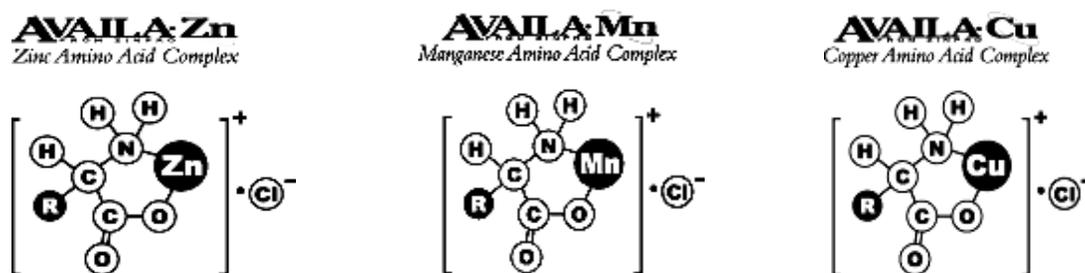
2.1.3 Minerales orgánicos. Definición.

Mineral orgánico o complejo metal, es un término genérico para describir los productos formados cuando el ión metálico se une a un ligando, el cual es una molécula o ión que posee un átomo con un par de electrones libres. Al unirse el ión metálico al ligando, se genera un anillo con 4, 5, 6 ó 7 miembros.

La Association of American Feed Control Officials (AAFCO), define y agrupa a las fuentes orgánicas de minerales trazas en 6 grupos según el tipo de ligando, surgiendo así 6 categorías (AAFCO, 1997):

1. **Quelato metal aminoácido:** resulta de la reacción de una sal metal soluble y un aminoácido, con una reacción en mol de 1:1 hasta 1:3 (preferentemente 1:2). El peso molecular del quelato no debe exceder los 800 dalton y el peso del aminoácido hidrolizado es de aproximadamente 150 dalton (Miles y Henry, 1999).
2. **Complejo metal aminoácido:** se obtiene a partir de la unión de una sal metal soluble y uno o más aminoácidos. El aminoácido no es específico y el complejo posee bajo peso molecular. Por ejemplo, un complejo Zn-aac (Miles y Henry, 1999).
3. **Complejo metal aminoácido específico:** Este producto resulta de la reacción de una sal metal soluble y un aminoácido específico. Posee una molécula muy consistente y una química estructural específica. Por ejemplo, Zn-metionina, Mn-metionina, Cu-lisina, Fe-metionina (Miles y Henry, 1999).
4. **Metal proteínato:** resulta de la quelación de una sal soluble con un aminoácido y/o una proteína parcialmente hidrolizada. Posee menor consistencia pues este proceso de digestión incompleta deja expuestas las cadenas de péptidos a cualquier metal puro o a otros átomos del metal (Fakler y Johnson, 1997).
5. **Metal polisacárido:** resulta de la reacción de una sal metal soluble y una solución de polisacárido. La matriz del polisacárido envuelve los minerales traza y les provee cierta protección física sobre la degradación (Fakler y Johnson, 1997).
6. **Metal ácido orgánico:** producto de la unión de una sal metal y un ácido orgánico altamente soluble. Estos se pueden disolver rápidamente en el tracto digestivo del animal. Ejemplos son el acetato de Zn, propionato de Zn y el citrato de Zn (Fakler y Johnson, 1997).

Los minerales orgánicos con anillos de 5 miembros tienen la mayor estabilidad (Hynes y Kelly, 1995). De este modo, los minerales a investigar en el presente trabajo (Availa Zn, Mn y Cu®) que corresponden a complejos metal aminoácido, tienen la estructura de anillos de 5 miembros. Los aminoácidos y péptidos son el típico ejemplo de ligando, ya que pueden donar electrones de ambos átomos, es decir el nitrógeno del grupo amino y el oxígeno del grupo carboxilo (Johnson y Fakler, 1998).



2.2 Requerimientos de Zn, Mn y Cu en aves.

Según NRC (1994), los niveles mínimos de Zn dietario para ponedoras comerciales es de 29 a 44 ppm, con un nivel máximo tolerable de 1000 ppm.

La misma fuente establece que los requerimientos mínimos de Mn están en el rango de 17 a 25 ppm en la dieta para todos los grupos de edad clasificados, con un máximo tolerable de 2000 ppm. El nivel de Cu en la dieta para pollas de reposición en crianza y recría y para producción debe ser de 4 y 5 ppm, respectivamente (NRC, 1994).

Maas (1999) recomienda la incorporación de 3 a 6 ppm de Cu en el alimento en las dietas de pollos de engorda.

Para la raza de ave utilizada en este estudio, la guía de manejo de la línea genética sugiere niveles de 66 ppm de Zn, 66 ppm de Mn y 8.8 ppm de Cu en las dietas de postura. (Hy-Line, 2003)

2.3 Biodisponibilidad de Zn, Mn y Cu en aves

La biodisponibilidad del Zn se ha evaluado en pollos broiler usando como parámetros la ganancia diaria de peso, la conversión alimenticia y el contenido de cenizas en la tibia (Anón, 1998). Se ha visto que en dietas con bajo contenido de Zn la biodisponibilidad de Zn orgánico (Availa Zn®) es mas alta que la del Zn inorgánico adicionado como sulfato ($ZnSO_4$). El compuesto orgánico presente en las cenizas del hueso tibial fue un 73% superior al del compuesto inorgánico (Anón, 1998).

El complejo metal aminoácido específico Zn-metionina, comparado con el Zn inorgánico, presentó una mayor biodisponibilidad (117 a 206%) versus un 100% logrado por el sulfato de Zn y un 44 a 61% logrado por el óxido de Zn (Spears, 1996).

Spears (1996) observó que la biodisponibilidad relativa de Mn en su forma orgánica (Mn-metionina) comparada con las formas inorgánicas (MnO_2 y $MnSO_4$) es mas alta en el caso de Mn-metionina (130 a 174% versus 108 a 132%, respectivamente). En pollos broiler de 21 días de edad se vio que la

biodisponibilidad de Mn en las formas de proteinato, óxido y sulfato fueron de 120%, 91% y 100%, respectivamente (Smith *et al.*, 1994).

Aoyagi y Baker (1993a) estudiaron la biodisponibilidad de Cu según fuente (animal o vegetal) midiendo concentración en hígado y plumas de pollos broiler de 7 a 21 días de edad. Tomando como referente una biodisponibilidad de 100% para el sulfato de Cu pentahidratado ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) observaron que las fuentes de origen animal presentaban una biodisponibilidad relativa entre 97 a 116 % versus el 40 a 48% de las fuentes vegetales.

En otro ensayo, utilizando el contenido de Cu en la bilis para evaluar la biodisponibilidad relativa de Cu-metionina y Cu-lisina encontraron valores de 96 a 114% respectivamente, utilizando como estándar el sulfato de Cu pentahidratado (Aoyagi y Baker, 1993 b, c).

3. FUNCIONES DEL Zn, Mn Y Cu EN AVES.

El Zn es importante en muchos aspectos del metabolismo de las aves, participando en la actividad enzimática, respuesta inmune, metabolismo proteico y de carbohidratos, integridad del tejido epitelial, aspectos reproductivos y tasa de crecimiento. El Zn participa en la síntesis de proteínas y en el desarrollo celular (crecimiento e integridad de la piel, emplume, producción de huevos, calidad de la cáscara). El sistema inmune depende del Zn para la formación de anticuerpos y además se ha observado que este mineral mejora la respuesta inmune global frente a desafíos (Johnson y Fakler, 1998).

El Mn tiene relevancia en el crecimiento e integridad del hueso y matriz ósea, tasa de crecimiento, depósito de grasas, eficiencia alimenticia y para la actividad de algunas enzimas, por ejemplo: manganeso superóxido dismutasa y piruvato carboxilasa. También se requiere para un buen emplume y es esencial en el metabolismo de carbohidratos y grasas. Otro rol del Mn es su habilidad para mejorar la incubabilidad de los huevos fertilizados (Johnson y Fakler, 1998).

El Cu participa en la respuesta inmune específica y no específica, promueve el consumo de alimento, reproducción, fortaleza de las patas, actividad enzimática, metabolismo del hierro y producción de la hemoglobina. El Cu es un componente esencial de varias metaloenzimas (Cu - metionina, citocromo-c oxidasa, ceruloplasmina y dopamina- β -monooxigenasa) que son críticas para el crecimiento normal y desarrollo (Johnson y Fakler, 1998).

4. MINERALES Y FORMACIÓN DEL HUEVO.

4.1 Aspectos generales de la formación del huevo.

Si bien es cierto, no es el objetivo de esta memoria estudiar el proceso de formación del huevo, es necesario describir brevemente los eventos que ocurren en el oviducto para entender algunos puntos relacionados con los minerales traza y su participación en este proceso.

Del tracto reproductivo de las gallinas podemos decir que sólo el oviducto izquierdo es funcional ya que el derecho involuciona a partir de los 15 días de edad. El oviducto es el encargado de recibir el óvulo, proveerle un

ambiente adecuado para la fertilización y secretar la albúmina, las membranas de la cáscara, formar la cáscara y la cutícula (Etches, 1996).

Morfológica y funcionalmente podemos dividirlo en seis regiones: infundibulum, mágnium, istmo, istmo rojo, glándula de la cáscara y vagina. El corte trasversal de cualquiera de estas regiones muestra siete capas que pueden agruparse en un tejido secretor, uno muscular y uno conectivo (Sauvers y Reviere, 1992). Todos los segmentos, excepto la vagina, están involucrados en la formación del huevo.

El infundibulum corresponde a la región más proximal al ovario y es el sitio donde ocurre la fecundación antes del depósito de la albúmina. En este segmento la yema o vitelo pasa sólo algunos minutos (15 a 20 min).

En el mágnium el huevo permanece entre 3 a 4 horas. Aquí se sintetizan la totalidad de las proteínas de la albúmina. Se describen tres tipos de células en las glándulas tubulares del mágnium: A, B y C (Wyburn *et al.*, 1970). No se sabe con exactitud cuáles son las que secretan albúmina, se piensa que las células tipo A son las que secretan ovoalbúmina y las tipo B producirían lisozima bactericida (Kohler *et al.*, 1968; Oka y Schimke, 1969 y Wyburn *et al.*, 1970).

En el istmo el huevo permanece 1 a 2 horas, aquí ocurre el depósito de las membranas de la cáscara. Las glándulas tubulares del istmo son semejantes en apariencia a las del mágnium, pero sus secreciones tienden a formar largos filamentos, a diferencia de las características masas amorfas secretadas por el mágnium. Son estas glándulas las responsables de la producción del colágeno tipo X (Fernández *et al.*, 1997; Fernández *et al.*, 2000).

En el istmo rojo ocurre el depósito de las mamilas, lugar donde se iniciará la mineralización de la cáscara.

Al abandonar el istmo rojo, el huevo pasa a la glándula de la cáscara donde permanecerá aproximadamente 20 horas. Aquí ocurre la hidratación de las proteínas de la clara y la mineralización de la cáscara que se produce por la precipitación de calcio sobre una trama orgánica. En las dos últimas horas de formación de la cáscara, se detiene la mineralización y se inicia el depósito de cutícula. Luego del depósito de ésta, la glándula de la cáscara se contrae y expulsa el huevo hacia la vagina (Solomon, 1983).

4.2-Efectos del Zn, Mn y Cu sobre la calidad del huevo.

Minerales traza como el Zn y el Mn juegan un rol importante en la formación de la cáscara. Estos efectos se deben a que el Zn y el Mn son cofactores y/o productos estructurales de enzimas del sistema responsable de la formación de carbonato y síntesis de mucopolisacáridos, respectivamente (Lundeen, 2001).

El Zn es esencial en numerosos sistemas enzimáticos participantes en procesos que regulan el metabolismo de energía, carbohidratos, ácidos nucleicos y síntesis de proteínas (Nys *et al.*, 1999). El Zn participa en procesos de mitosis y síntesis de proteínas por lo que su deficiencia afecta la calidad de los epitelios al haber una menor síntesis celular (ej: células y epitelios glandulares). Adicionalmente afectaría las secreciones epiteliales, indirectamente por efecto sobre el epitelio o indirectamente durante la síntesis de la membrana de la cáscara, fluido de la glándula de la cáscara o cáscara (Nys *et al.*, 1999). También

se describe que la deficiencia de Zn, en el mágnium, alteraría el depósito de albúmina (Nys et al., 1999) e influiría sobre la producción de proteínas en el istmo (Ej.: colágeno X), descrito por Fernández (2000). Todas las proteínas de la cáscara son secretadas en el fluido uterino (ovotransferrina, ovoalbúmina, lisozima, osteopontina, OC17, OC116, ovocalyxinas 21-32). Por lo que es importante insistir en el rol del Zn en el depósito de calcio y la calcificación de las membranas de la cáscara (Nys et al., 1999).

El Mn es en general un activador de sistemas enzimáticos para el metabolismo de los carbohidratos, grasas, proteínas y ácidos nucleicos. Participa en la formación del colesterol (hormonas reproductivas) y colágeno. Su déficit produce una disminución del colágeno I y X (Nys et al., 1999). Afecta la matriz proteica y la iniciación de la cristalización del Ca y formación de la cáscara (Arias y Fernández, 1993). Este mineral es importante en aves en crecimiento, para el desarrollo óseo, principalmente de huesos largos, para la reserva y movilización de Ca usado por la gallina para la formación del huevo (Chowdhury, 1990).

Hay informes que indican que los recursos orgánicos de Zn y Mn mejoran la producción de aves de postura comercial, la calidad y el peso del huevo, el grosor y peso de la cáscara y la gravedad específica. Referente a las unidades Haugh, esta característica de calidad no se vio afectada por el uso de recursos orgánicos de Zn y Mn, en huevos frescos, pero sí en huevos almacenados por 3 días (Khajarearn *et al.*, 2002a).

El Cu es un activador y constituyente de enzimas. Participa en el metabolismo del hierro y maduración de eritrocitos. Una deficiencia de Cu afecta esencialmente la síntesis de las membranas de la cáscara del huevo (Tullet, 1987).

Kim y Hill (1996) describen una reducción de la enzima amino oxidasa, la cual es esencial para la deaminación oxidativa de la lisina, desmosina e isodesmosina (participantes en la formación de la matriz de la cáscara). También la deficiencia de Cu afectaría la calidad de las células y el epitelio del oviducto (Chowdhury, 1990). El Cu participa en la formación de vasos sanguíneos del ovario (Hodges, 1974). Deficiencias de Cu pueden generar hemorragias y presencia de sangre en la yema del huevo (Chowdhury y Davis, 1989).

5- SISTEMA INMUNE EN AVES

5.1-Aspectos generales

El sistema inmune en los vertebrados superiores lo podemos dividir desde un punto de vista general en un sistema inmune innato y un sistema inmune adaptativo.

El sistema inmune innato esta conformado por barreras físicas como la flora normal de piel y mucosas, factores humorales y algunas respuestas celulares que actúan en forma INESPECÍFICA. Asociados a estas barreras existen mecanismos de contención tales como el movimiento ciliar a nivel de vías aéreas superiores, peristaltismo intestinal, enzimas presentes en fluidos corporales y ácidos a nivel gástrico. El sistema inmune adaptativo se diferencia del innato en que es capaz de generar una respuesta ESPECÍFICA frente a un patógeno particular, lo cual lleva a la eliminación del mismo. Además, la respuesta del sistema adaptativo posee la capacidad de generar memoria, con lo cual puede reaccionar frente a una posterior infección con éste mismo agente patógeno. (Palomo et al., 2002)

La respuesta adaptativa frente a un antígeno es el resultado de una serie de fases complejas y organizadas que implican la interacción de poblaciones celulares (linfocitos), como consecuencia del reconocimiento de antígenos específicos. Este reconocimiento de antígenos da lugar a dos tipos de respuesta. Una denominada **humoral**, dada por los anticuerpos o inmunoglobulinas y la **celular** dada principalmente por linfocitos. Ambas respuestas son interdependientes (Roitt *et al.*, 1989)

Sistema inmune innato y adaptativo y sus componentes.

	Resistencia no provocada Por infecciones repetitivas	Resistencia provocada Por infecciones repetitivas
	Sistema inmune innato	Sistema inmune adaptativo
Factores solubles	Lisozimas, complemento, proteínas de fase aguda (Ej: CRP, interferón)	Anticuerpos
Células	Macrófagos fagocitos, células NK	Linfocitos T

(Immunology Roitt, Ivan. 1989)

Esta memoria de título se enfoca en la respuesta humoral por lo que se describirá básicamente este tipo de respuesta.

Existen dos poblaciones de linfocitos: B y T generados en los órganos linfoides primarios. Los linfocitos B son los encargados de mediar la respuesta por anticuerpos y los linfocitos T se encargan de la respuesta celular. Los anticuerpos o inmunoglobulinas son producidos por las células plasmáticas que representan el estado final de diferenciación de los linfocitos B, son moléculas proteicas. Su función es la de ser mediadores de la respuesta inmune humoral y por lo tanto, de la neutralización y eliminación de diversos antígenos, gatillando una variedad de reacciones inmunológicas. Una de las características esenciales de

esta respuesta es su carácter específico y heterogéneo, es decir, se sintetizan anticuerpos de distinta clase, avidéz, y afinidad capaces de interactuar con epítomos antigénicos según un claro patrón temporal. Estos anticuerpos marcan al antígeno agresor para ser luego destruido por los otros mecanismos defensivos. Existen varias clases de inmunoglobulinas, dentro de las cuales, en el caso de las gallinas, podemos mencionar a las IgG, IgA e IgM (Palomo *et al.*, 2002).

Las IgG son las más pequeñas y abundantes en el plasma sanguíneo. Las IgA están asociadas a mucosas (traquea, bronquios, esófago, intestino, conjuntiva ocular, uretra, etc). Las IgM son las de mayor tamaño y se encuentran circunscritas al plasma sanguíneo y no tienen la capacidad de atravesar las paredes de los capilares a diferencia de las otras inmunoglobulinas (Tizard, 1995)

Las inmunoglobulinas o anticuerpos tienen la capacidad de circular por el plasma para ubicarse sobre un antígeno que les sea homólogo pudiendo sus efectos ser de dos tipos: marcando al agente extraño para la posterior destrucción o bien la neutralización del agente extraño, evitando así la adherencia de este a las células blanco (Tizard, 1995)

5.2-Efectos del Zn, Mn y Cu sobre la respuesta inmune.

Adecuados niveles de Zn en las dietas de gallinas ponedoras son necesarios para el desarrollo, mantención y función del sistema inmune y células asociadas incluidos los heterófilos, basófilos, macrófagos y linfocitos T (Dardenne y Bach, 1993).

Una deficiencia de Zn tiene como consecuencia una menor producción de linfocitos T. Una disminución en los niveles de Zn-metaloenzimas se traduce en una alteración de la función del epitelio del timo, atrofia del timo y una insuficiencia de la hormona tímica timulina (Dardenne y Bach, 1993).

Investigaciones realizadas en pavos por Kidd et al. (1994), mostraron que el incremento de los niveles de Zn y Mn inorgánico mejoraron la respuesta inmune humoral y celular (reacción cutánea a BHP-P). Sin embargo, la adición de complejos orgánicos de minerales traza, al nivel más bajo de suplementación inorgánica mejoró la respuesta obtenida por los niveles más altos de minerales traza inorgánicos. Además la adición de los complejos orgánicos de minerales traza, mejoraron significativamente ($p < 0.05$) tanto los niveles de títulos de anticuerpos, como la habilidad de los macrófagos “células asesinas” sobre los niveles más alto de suplementación de minerales trazas inorgánicos.

Khajareern *et al.* (2002a) informó que los títulos de anticuerpos contra la enfermedad de Newcastle, Gumboro y Bronquitis Infecciosa detectados vía test de Elisa, fueron mayores en reproductoras broilers alimentadas con 40 ppm de Zn y de Mn provenientes de un complejo metal aminoácido específico (Zn-Metionina).

De acuerdo a Aoyagi y Baker (1993a), Aoyagi y Baker (1993b) y Johnson y Fakler (1998), el Cu también es importante ya que al ser componente del sistema inmune participa en los procesos específicos y no específicos. En este sentido la distribución tisular de Cu se ve alterada durante la fase aguda de la respuesta inmune ya que el aumento de la concentración de Cu y ceruloplasmina en suero, juega un notable rol en esta fase de la respuesta inmune.

Koh et al (1996), estudió el efecto del nivel de Cu dietario en el metabolismo de éste, frente a un estrés inducido con LPS (lipopolisacárido de *salmonella typhymurium*) en pollos broiler. Estos autores utilizaron dietas con niveles basales, deficitarios y suplementados con Cu en sus formas de CuO y CuSO₄. Sus resultados indican que las dietas con niveles basales y más aún las suplementadas con Cu lograron un mejor rendimiento de las aves (P< 0.01) (mejor GDP, consumo de alimento y ECA), junto con un aumento en los niveles de ceruloplasmina, al compararlas con las dietas deficitarias en Cu.

6.-PELECHA FORZADA

La pelecha o muda es un proceso natural en las aves para renovar sus plumas antes de la migración, días cortos o climas fríos. Normalmente las aves silvestres mudan sus plumas una vez al año cuando producen unos cuantos huevos y este cambio no se relaciona con el ciclo de postura. En las aves de postura comercial la pelecha no se presentará sino hasta el final de un largo período de postura y con una duración de aproximadamente 4 meses para cambiar todas las plumas (North, 1986).

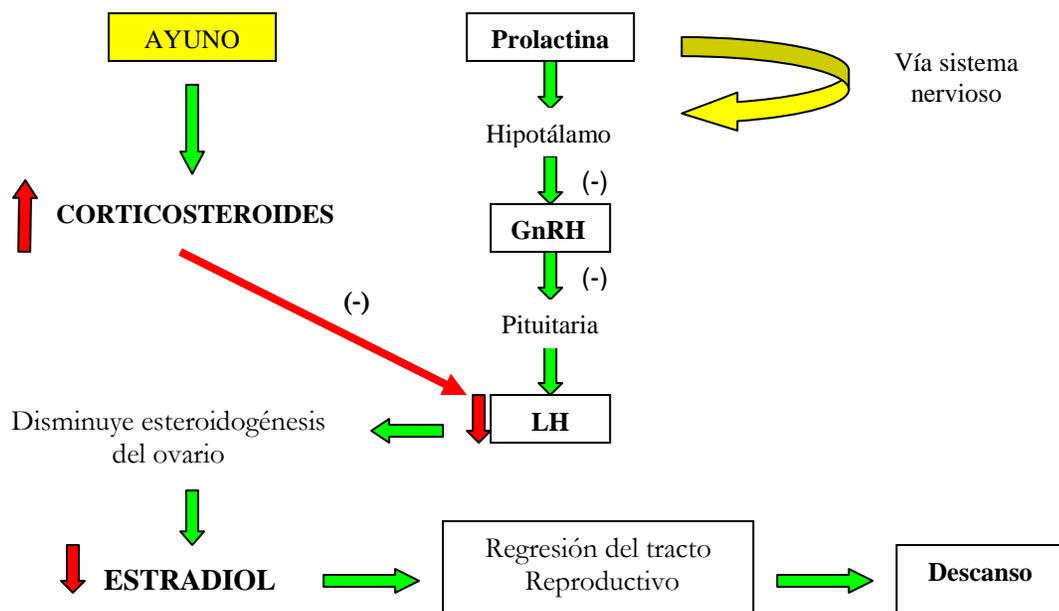
La pelecha forzada es practicada para producir un período de descanso a la gallina después de un largo e intensivo ciclo de producción. Durante este descanso existe regresión y regeneración del tracto reproductivo lo cual mejora subsecuentemente la producción de huevos y la calidad de la cáscara (Wallace, 2002). Este proceso también induce una recrudescencia temporal del tejido linfoide y mejora la función inmune en las ponedoras (Berry, 2003).

6.1-Fisiología de la pelecha

La muda o pelecha forzada implica cambios reproductivos, sanguíneos, inmunes y endocrinos los cuales se traducen principalmente en un descanso para el sistema reproductivo con involución y regeneración del tracto reproductivo, un aumento de la tasa de ovulación, además se mejora la calidad de cáscara (Webster, 2003).

El ayuno al cual se someten las aves tiene un efecto sobre las glándulas adrenales aumentando la síntesis de corticoesteroides los cuales ejercen un feedback negativo sobre la producción de LH con lo cual disminuye la síntesis de esteroides en ovario (figura 1). A su vez aumenta la gluconeogenesis lo que ayuda al ave a mantener los niveles de glucosa plasmática durante el ayuno. Se observa un incremento de la actividad de las aves en este período (Webster, 2003).

Figura 1: Fisiología de la pelecha.



6.2-Minerales traza y pelecha forzada.

Prácticamente no hay estudios que relacionen la fuente de minerales traza y parámetros productivos y de calidad de huevo durante el segundo periodo de postura después de una pelecha forzada. Éste es uno de los primeros en su tipo. Aún así existen trabajos como el de Fakler et al. (2002a) donde se suplementaron ponedoras blancas desde el día de edad con 40 ppm de complejo de Zn-aminoácido (Availa Zn®) hasta la pelecha forzada a las 65 semanas de edad. En este estudio los indicadores de producción y de calidad de huevos tales como: unidades Haugh, gravedad específica del huevo, grosor de la cáscara y resistencia a la fractura, tamaño del huevo y masa del huevo fueron mejoradas. La mortalidad total fue disminuida.

Jackson *et al.*, (1997) estudió la eficacia de 3 complejos minerales en base a zinc (zinc-sulfato, zinc-metionina y zinc-metionina-lisina) frente al efecto temperatura incluyendo una pelecha forzada encontrando un efecto positivo de la suplementación en el desempeño de las aves. Los parámetros producción/gallina/día, mortalidad y peso del huevo fueron significativamente mejorados durante la pelecha. No se observaron incrementos o beneficios de la suplementación en los indicadores consumo de alimento y peso de huevo.

El presente estudio busca comparar el efecto de suplementar dietas de gallinas de postura comercial con Zn, Mn y Cu en sus formas inorgánicas *versus* sus formas orgánicas (complejos metal aminoácido) durante el segundo ciclo de postura incluyendo la pelecha forzada ya que existe poca información al respecto. Hay que recordar que este estudio es la parte final de uno más amplio que partió con pollitas de un día de edad y se extendió hasta un segundo ciclo productivo.

HIPÓTESIS

La suplementación de dietas de gallinas de postura comercial con Zn, Mn y Cu como minerales “orgánicos”, permite obtener una mejor calidad del huevo, una mayor respuesta inmune y beneficios en indicadores productivos, durante el segundo ciclo de postura de estas aves, al compararlas con aquellas logradas con la suplementación de éstos minerales en su forma inorgánica.

OBJETIVO GENERAL

Evaluar respuestas productivas, inmunológicas y de calidad del huevo en ponedoras comerciales de 2º ciclo de postura, alimentadas desde las 65 a las 84 semanas de edad, con formas orgánicas y/o inorgánicas de los minerales Zn, Mn y Cu.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Comparar el efecto de la suplementación de Zn, Mn y Cu de origen orgánico e inorgánico, sobre la calidad externa e interna del huevo en ponedoras durante un segundo ciclo de postura.
2. Comparar el efecto de la suplementación de Zn, Mn y Cu de origen orgánico e inorgánico, sobre la respuesta inmune humoral en ponedoras durante un segundo ciclo de postura.
3. Evaluar el efecto de la suplementación de Zn, Mn y Cu de origen orgánico e inorgánico, sobre los indicadores productivos: peso huevo y producción de huevos, en ponedoras durante el segundo ciclo de postura.

MATERIAL Y MÉTODOS

El presente estudio es la tercera parte de un proyecto más amplio, que se inició con pollitas desde el 1º día de vida y termina con gallinas de 84 semanas de 2º ciclo de postura, post-pelecha. El período experimental de esta memoria, se extiende desde las 65 semanas de edad y termina a las 84 semanas de vida.

1. LUGAR

El estudio, se realizó en la unidad experimental de aves de postura de la Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias de la Universidad de Chile.

AVES

Se utilizaron ciento cuarenta (140) gallinas de postura de raza Leghorn de la línea genética Hy-Line W-36.

2. MANEJOS

2.1 DISTRIBUCIÓN DE LAS AVES

Las aves fueron distribuidas en 36 jaulas con cuatro aves en cada una (en algunas jaulas tres aves). A su vez estas aves se repartieron entre los tratamientos propuestos según se detalla a continuación.

2.2 DISTRIBUCIÓN DE LOS TRATAMIENTOS

Se estructuraron tres tratamientos: T1, T2 y T3. Cada tratamiento tuvo cuatro repeticiones, contemplando 12 aves por repetición y en algunos casos 11 aves (Tabla 1)

Tabla 1: Distribución espacial de los tratamientos y repeticiones por línea de jaulas y número de aves por jaula, dentro de la batería de crianza.

Línea de jaulas	Nº tto = nº aves	Nº tto = nº aves	Nº tto = nº aves	Nº tto = nº aves
Superior	T 1.1 = 11 (*)	T 2.1 = 11 (*)	T 3.1 = 12	T 2.2 = 12
Media	T 3.2 = 11 (*)	T 1.2 = 12	T 2.3 = 12	T 1.3 = 12
Inferior	T 2.4 = 12	T 3.3 = 11 (*)	T 1.4 = 12	T 3.4 = 12

(*) Repeticiones en que murieron gallinas durante los dos estudios previos al presente (inicialmente se contaba con 144 aves).

2.3 DESCRIPCIÓN DE LOS TRATAMIENTOS

Los tratamientos T1, T2 y T3 fueron diseñados en base a las partes por millón (ppm) y tipo de fuente de Zn, Mn y Cu que se utilizó para incorporar estos minerales en la dieta (Tabla 2).

- ▶ **T1 (control):** dieta basal suplementada con 80 ppm de Zn, 80 ppm de Mn y 5 ppm de Cu, todos adicionados en su forma inorgánica como sulfatos.
- ▶ **T2:** igual que el T1 pero además se adicionaron 40 ppm de Zn, 40 ppm de Mn y 7 ppm de Cu en la forma de complejos metal aminoácido (Availa Zn, Mn y Cu®)¹.
- ▶ **T3:** constó de 120 ppm de Zn, 120 ppm de Mn y 12 ppm de Cu, todos en forma de sulfato.

¹Zinpro Corporation, Eden Prairie, Minnesota, USA.

Tabla 2: Niveles de suplementación mineral (en ppm) y fuentes de Zn, Mn y Cu utilizados en los distintos tratamientos.

Tratamiento	ZnSO ₄	MnSO ₄	CuSO ₄	Availa-Zn®	Availa-Mn®	Availa-Cu®
1	80	80	5	-	-	-
2	80	80	5	40	40	7
3	120	120	12	-	-	-

2.4 MUDA (PELECHA) FORZADA

Se inició a las 65 semanas de edad de las aves, manejando la alimentación (ayuno) y las horas luz, de acuerdo al siguiente protocolo:

1. Siete días antes de retirar el alimento (previo a iniciar el ayuno)

- a) Se aumentó la luz artificial hasta alcanzar 24 horas de luz total por día.
- b) Se pesaron todas las gallinas para saber el peso inicial. Posteriormente se eligió una jaula por repetición para realizar el pesaje diario al comenzar el ayuno.
- c) Se dieron 3g. de conchuela por gallina por día sobre el alimento en los comederos. Esto se hizo diariamente por los siete días previos a comenzar el ayuno.

2. Día 1 (inicio de la pelecha).

- a) Se inició el ayuno retirando el alimento de los comederos. Hubo que mantenerlo hasta que las gallinas perdieron un 25 % del peso inicial.
- b) Se dieron 30g de conchuela, de partículas grandes (3-4mm) por cada gallina, por una vez.
- c) Sólo se dejó luz natural (nada de luz artificial).

3. Día 3

- a) Se pesaron diariamente las mismas gallinas pesadas previamente hasta que redujeron el peso vivo a 1,250kg., o perdieron un 25% de su peso inicial
- b) Cuando el peso vivo llegó a 1,250kg o bien las aves perdieron el 25% del peso inicial, se comenzó a dar alimento "Recría" diariamente empezando con 40 gramos/gallina/día y aumentando cada dos días la ración en 10 g/gallina/día hasta alcanzar un consumo de 90 g/gallina/día.
- c) 4 a 5 días después de iniciada la alimentación, se vacunó 1 gallina por jaula, previamente identificadas con crotal, contra **Enfermedad de Newcastle y Bronquitis Infecciosa** con una vacuna inactivada que se detallará más adelante. También se vacunó contra *Salmonella enteritidis* a una gallina por jaula identificada con crotal (distinta a la vacunada contra Enfermedad de Newcastle y Bronquitis Infecciosa). Durante los estudios anteriores estas aves habían sido vacunadas contra Enfermedad de Marek, Enfermedad de Newcastle, Bronquitis Infecciosa, Enfermedad de Gumboro y Viruela, en sus etapas iniciales de crianza, recría, siguiendo un protocolo sanitario habitual del sector comercial chileno.
- d) Se continuó pesando, día por medio, las mismas gallinas.

4. Día 21

- a) Se aumentó las horas de luz en 2 horas con luz artificial, sobre la luz natural.
- b) Se comenzó a suministrar la ración de ponedoras sin restricción en cantidad.

5. Día 28

Se aumentó 1 hora más de luz artificial por semana, por 2 semanas; después se comenzó a aumentar de ½ hora semanal, hasta llegar al total de horas de 16 horas luz/día.

3. VARIABLES A CONTROLAR

3.1.- Indicadores Productivos:

- Producción de Huevo (%): los huevos se recolectaron durante el día, contabilizándolos por repetición (1.1, 1.2,...2.3....3.4). La suma de los huevos de cada repetición, dentro de cada tratamiento se dividió por el número de gallinas totales de cada tratamiento. Se expresaron como promedio semanal.
- Peso del huevo (g): se registró semanalmente, al juntar todos los huevos de una repetición un día a la semana, se pesaron y se expresaron como promedio semanal por repetición y tratamiento.

3.2.- Calidad Externa e Interna del Huevo:

La calidad del huevo se midió por muestreo de un huevo por jaula (12 huevos por tratamiento) cada vez que se realizó el análisis. Las mediciones se efectuaron cada cuatro (4) semanas entre la semana 65 y 84 de edad. En cada huevo se evaluó:

3.2.1-Calidad Externa:

-Indicadores de observación y registro diario (expresados como resumen semanal)

- Defectos visibles de la cáscara (%): Se buscaron trizaduras, roturas y ausencia de cáscara. Se hizo un registro diario de los huevos por repetición para expresarlos como porcentaje semanal.

- Huevos sucios (%): Se contabilizaron diariamente los huevos sucios con sangre y/o fecas, según repetición. Se expresaron como porcentaje semanal.

-Indicadores de análisis mensual en laboratorio: Estas mediciones se realizaron cada cuatro semanas en el laboratorio CERPRAN ubicado en la Facultad. De Cs. Veterinarias y Pecuarias. Universidad de Chile.

- Gravedad específica: mediante el método descrito por Hempe *et al.*, (1998), se colocaron los huevos en baldes con soluciones de sal común (NaCl) y agua, con distintas densidades, considerándose como gravedad específica del huevo a la primera solución en la que el huevo flotó.
- Grosor de cáscara (mm): se registró con un micrómetro, midiendo tres puntos alrededor de la línea de fractura, en el ecuador de la cáscara de huevo.
- Resistencia de la cáscara a la fractura (Kg/cm²): se comprimió el huevo en su ecuador con un durómetro TSS (Technical Systems and Supplies, UK), el cual mide la fuerza que se necesita para romper la cáscara
- Deformación de la cáscara (mm): La medición indica cuanto se deforma la cáscara del huevo al comprimirlo en la línea del ecuador con un durómetro TSS.

3.2.2-Calidad Interna del Huevo:

- Unidades Haugh: Mide la altura de la albúmina densa de huevos previamente quebrados sobre una superficie lisa, usando un tornillo micrométrico conectado a un sistema computacional (Eisen *et al.*, 1962).

- Color de yema: (grado de pigmentación) se usa un sensor foto colorimétrico (Chroma Meter TSS) conectado a un sistema computacional, calibrado con escala Roche.
- Relación yema / albúmina (peso y volumen): se pesó y midió el volumen de yema y albúmina por separado usando una pesa y probetas graduadas respectivamente.

3.- Evaluación Inmunológica. Los exámenes serológicos se hicieron en Laboratorios Agrovet

- Medición de Anticuerpos Específicos contra Enfermedad de Newcastle y Bronquitis Infecciosa: el día de la vacunación, antes del procedimiento, se tomó muestra sanguínea de una gallina por jaula, (doce por cada tratamiento), para obtener suero. Las muestras fueron tomadas mediante venopunción en el ala, obteniendo 3 ml de sangre. Esta sangre fue centrifugada a 3000 rpm por 15 minutos para extraer el suero, el cual fue congelado para su posterior análisis. La vacuna que se utilizó fue una vacuna combinada de virus de Enfermedad de Newcastle y Bronquitis Infecciosa inactivados (CEVAC® Lab. CEVA Sante Animale) inoculando 0.5 ml en la pechuga de las aves identificadas por crotal negro. Cuatro semanas después de esta vacunación, se volvieron a muestrear las mismas aves (identificadas por crotal), para realizar la segunda medición de anticuerpos específicos contra Newcastle y Bronquitis Infecciosa, por medio de un test Elisa (IDEXX®).
- Medición de Anticuerpos Contra *Salmonella enteritidis*. El día de la vacunación, antes del procedimiento, se tomó muestra de sangre de una gallina por jaula, (doce por cada tratamiento), para obtener suero. Las muestras fueron

tomadas mediante venopunción en el ala, obteniendo 3 ml de sangre. Esta sangre fue centrifugada a 3000 rpm por 15 minutos para extraer el suero, el cual fue congelado para su posterior análisis. La vacuna utilizada fue una bacterina de *S. enteritidis* (Layermune® Lab. Biomune) y se aplicó en dosis de 0.5 ml s.c. en el cuello (con la aguja en dirección contraria a la cabeza) de las aves identificadas por crotal blanco con pinta roja. La medición de anticuerpos se hizo mediante un test Elisa específico para *S. enteritidis* (IDEXX®)

ANÁLISIS ESTADÍSTICO.

El análisis de los parámetros productivos, durante el periodo de producción, se realizó bajo un diseño de medidas repetidas en el tiempo (parcelas divididas), donde los factores evaluados son el efecto tratamiento (3 tratamientos y 4 repeticiones) y el tiempo (semana de vida), considerando dentro del modelo como parcelas los tratamientos y como subparcelas el tiempo, cuya descripción corresponde a:

$$y_{ijkl} = \mu + \alpha_i + \beta_{j(\alpha)} + \tau_k + \alpha\tau_{(ik)} + E_1(ijk)$$

Donde: μ : promedio general. α : tratamiento. β : repetición. τ : tiempo (semanas). $\alpha\tau$: interacción tratamiento/tiempo. ϵ : error experimental.

La calidad interna y externa del huevo se analizó mediante un diseño factorial 3 x 3, donde el primer factor corresponde al efecto tratamiento (3

tratamientos con 4 repeticiones) y el segundo factor al tiempo de muestreos (3 muestreos en este caso) que corresponde a:

$$y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \alpha\beta_{(ij)} + E_{k(ij)}$$

Donde μ : promedio general. α : tratamiento. β : tiempo de muestreo. $\alpha\beta$: interacción tratamiento/tiempo. ϵ : error experimental.

En esta evaluación la unidad experimental estará conformada por 3 huevos por repetición (1 por jaula), cada vez que se efectúen las mediciones (cada 4 semanas).

El análisis estadístico de la respuesta inmune se realizó mediante un modelo simple al azar donde el primer factor corresponde al efecto tratamiento y el segundo al tiempo de muestreo. La fórmula es la siguiente:

$$y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \alpha\beta_{(ij)} + E_{k(ij)}$$

Donde μ : promedio general. α : tratamiento. β : tiempo de muestreo. $\alpha\beta$: interacción tratamiento/tiempo. ϵ : error experimental

Para evaluar el efecto de la fuente de variación, los datos se someterán a un análisis de varianza (ANDEVA), utilizando el programa SAS (2000) y los valores expresados como porcentaje serán transformados por la función

arcoseno mediante la ecuación de Bliss previo al ANDEVA. Las diferencias estadísticas entre promedios específicos, se establecerán por contrastes ortogonales mediante la prueba de Tukey (Steel y Torrie, 1980)-

En las Tablas 3 y 4, se describen las dietas a usar en el estudio y su composición nutricional, respectivamente. Los aportes nutricionales de las dietas se ajustaron a las directrices del NRC (1994) para aves ponedoras y también teniendo en consideración las recomendaciones nutricionales de la línea genética.

Tabla 3: Formulas de las dietas a usar durante el periodo experimental en las aves de postura comercial de las 65 a 84 semanas de edad.

FORMULA DIETA RECRÍA⁴		FORMULA DIETA PONEDORA⁵	
Ingredientes	(%)	Ingredientes	(%)
Maíz Nacional	69,90	Maíz Nacional	55,52
Afrecho Soya sin cáscara	13,40	Afrecho Soya sin cáscara	25,00
Conchuela	1,16	Conchuela	9,08
Aceite Oleina	1,00	Afrechillo de Trigo	5,04
Fosfato Bicálcico	1,96	Aceite Vegetal	3,00
Sal Fina	0,31	Fosfato Bicálcico	1,69
Metionina DL	0,07	Sal Fina	0,34
Vitamina Ponedora	0,20	Metionina DL	0,1316
Mineral Ponedora 1 ¹	0,10	Vitamina Ponedora	0,10
Mineral Ponedora 2 ²	0,10	Mineral Ponedora 1 ¹	0,10
		Mineral Ponedora 2 ²	0,10
Availa Zn ³	0,032	Availa Zn® ³	0,032
Availa Mn ³	0,04	Availa Mn® ³	0,04
Availa Cu ³	0,006	Availa Cu® ³	0,006

¹ Premezcla mineral contiene 80 ppm de Zn, 80 ppm de Mn y 5 ppm de Cu, todos como sulfato por Kg de premezcla; usada en la elaboración del alimento para el tratamiento 1 y 2.

² Premezcla mineral contiene 120 ppm de Zn, 120 ppm de Mn y 12 ppm de Cu, todos como sulfato por Kg de premezcla; usada en la elaboración del alimento para el tratamiento 3.

³ Complejos minerales “orgánicos” que aportan 40 ppm de Zn, 40 ppm de Mn y 7 ppm de Cu, respectivamente; usados en la elaboración del alimento para el tratamiento 2.

⁴ Dieta recria utilizada al iniciar la alimentación de las aves después del periodo de ayuno.

⁵ Dieta usada durante el segundo periodo de postura.

Tabla 4: Composición nutricional calculada de las dietas a usar en el este ensayo en base a los requerimientos de la línea genética para el segundo período de postura.

APORTE DIETA RECRÍA		APORTE DIETA PONEDORAS	
Nutriente	Alimentación Diaria	Nutriente	Alimentación Diaria
EMAn, Kcal/ kg	2.845	EMAn, Kcal/ kg	2.700
Proteína Cruda, %	13,5	Proteína Cruda, %	17
Calcio, %	1,0	Calcio, %	3,80
Fósforo disponible, %	0,45	Fósforo disponible, %	0,40
Sodio, %	0,16	Sodio, %	0,180
Metionina, %	0,30	Metionina, %	0,400
Metionina + Cistina, %	0,52	Metionina + Cistina, %	0,708
Lisina, %	0,58	Lisina, %	1,075
Triptofano, %	0,14	Triptofano, %	0,200
Treonina, %	0,40	Treonina, %	0,648
Fibra Cruda, %	3,50	Fibra Cruda, %	2,6
Acido Linoleico, %	1,20	Acido Linoleico, %	2,58

HY-LINE INTERNATIONAL West Des Moines, Iowa 50265.
 Guía de Manejo Variedad W-36 2003-2005.

RESULTADOS Y DISCUSION.

1. Parámetros productivos.

Este trabajo contempló utilizar los indicadores productivos: producción de huevo (PP) y peso de huevo (PH) cuyos resultados obtenidos para los distintos tratamientos durante el segundo ciclo de postura (comprendido entre las 65 y 84 semanas de edad) se muestran en la **Tabla 5**.

Tabla 5: Efecto de la suplementación de zinc, manganeso y cobre de fuentes orgánicas e inorgánicas sobre los indicadores producción de huevos y peso de huevo³ de gallinas post-pelecha entre las 65 y 84 semanas de edad. Valores corresponden al promedio de cada tratamiento, para las 20 semanas experimentales.

Tratamientos			Parámetros ⁵	
	Minerales Inorgánicos (ppm) ¹	Minerales Orgánicos (ppm) ²	Producción (%)	Peso huevo (g)
1	80/80/5	-	74.10	63.54a
2	80/80/5	40/40/7	73.35	62.46b
3	120/120/12	-	73.62	64.08a
			Valores de probabilidad ⁴	
Tratamiento			0.5013	0.0001
Tiempo muestreo			0.0001	0.0001
Interacción			0.4518	0.9055
			Análisis de contraste	
T1 vs. T2 y T3			0.1920	0.8168
T2 vs. T3			0.1265	0.2992

a,b Valores dentro de cada columna con subscripto diferente, difieren estadísticamente ($p < 0.05$)

¹ Niveles de Zn, Mn y Cu suministrados como ZnSO₄, MnSO₄ y CuSO₄, respectivamente.

² Niveles de Zn, Mn y Cu suministrados como complejos metal aminoácidos.

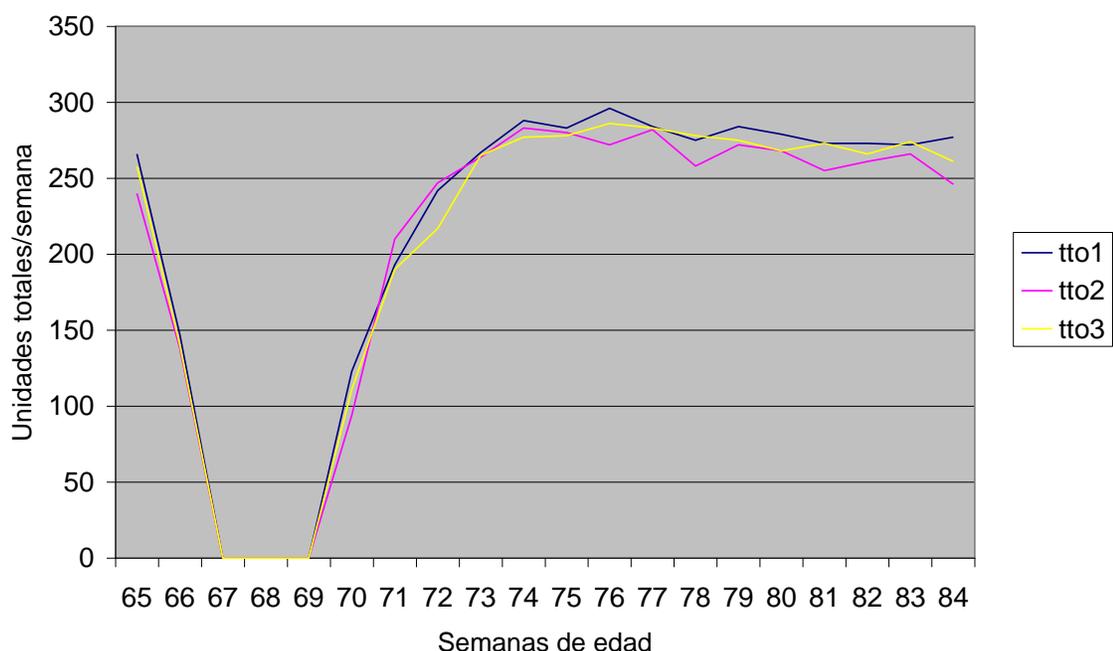
³ Observaciones de registro diario expresadas como % semanal, excepto variable peso huevo que fue tomada una vez a la semana.

⁴ Valores de probabilidad ANDEVA bajo diseño de medidas repetidas en el tiempo.

⁵ Promedio total de 140 aves, (aprox. 48 aves por tratamiento) para todo el período experimental.

El parámetro PP no mostró diferencias significativas entre tratamientos ($P>0.05$) con lo cual no se cumple la hipótesis establecida en esta memoria. Si existieron diferencias significativas para tiempo de muestreo ($p<0.0001$). Cabe mencionar si, que el T2 (complejo metal aminoácido) fue el primero en recuperar la producción y se mantuvo así las semanas 71 y 72 lo que se puede apreciar en el **Gráfico 1**.

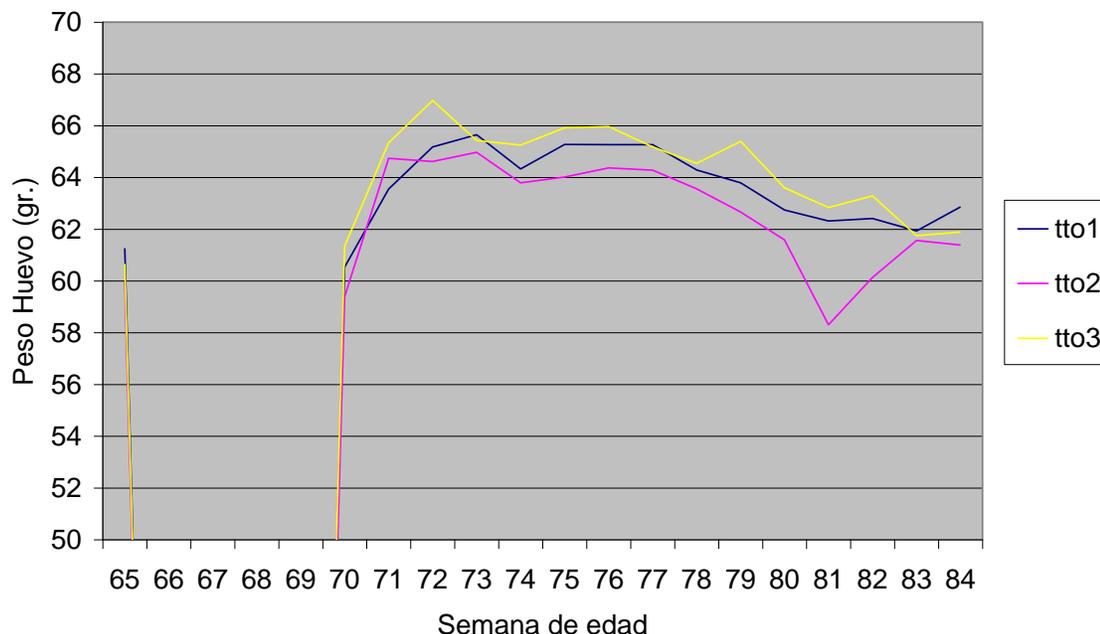
Gráfico 1: Producción total de huevos de la aves en los tres tratamientos durante el segundo período de postura (incluyendo los días de pelecha).
Semanas 65 a 84



El parámetro PH (**Tabla 5**) mostró diferencias significativas ($P<0.0001$) entre tratamientos y tiempo de muestreo, donde el mejor peso es obtenido por los T3 y T1, siendo estos significativamente ($p<0.05$) diferentes al T 2. Esto no ocurre al analizar la interacción tratamiento-tiempo donde no se observan diferencias significativas ($p>0.05$). Además, al realizar las pruebas de contraste no se observó superioridad de ninguno de los tratamientos para este indicador ($p<0.05$). En el **Gráfico 2** se puede observar el comportamiento del peso del

huevo durante el período de estudio, destacando que el T2 siempre fue el de menor peso a partir de las 72 semanas de edad.

Gráfico 2: Peso de huevo promedio alcanzado por las aves de los tres tratamientos para el segundo periodo Productivo. Semanas 65 a 84.



Estos resultados concuerdan en parte con lo informado por Chica (2002) el cual utilizó pollitas de 1 día de edad hasta las 26 semanas de vida (períodos de crianza y recría) sometidas a tres tratamientos iguales a los de esta memoria. Informa que no hubo diferencias significativas ($p>0.05$) en sus parámetros productivos: producción de huevo, peso huevos para el nivel y/o fuente de suplementación. Resultados tal vez atribuibles a la edad de las aves o al corto período experimental puesto que basados en trabajos como el de Fakler *et al.* (2002b) donde evaluaron el efecto de la suplementación de Zn como óxido (66 ppm) y complejo metal aminoácido (40 ppm) en aves Isa White, desde el primer día de edad hasta el fin de la pelecha forzada (semana 65), si se obtuvieron resultados significativos a favor de los minerales orgánicos ($p<0.05$) para

parámetros como producción de huevos, consumo acumulado por docena de huevo, mortalidad y huevos clasificados en bajas categorías. También los resultados de Khajarern *et al.*, (2002b), demostraron que la suplementación con Availa Z/M® (complejos de Zn y Mn), en dietas de reproductoras broiler aumentaron la producción de huevos ($P < 0,10$) y el número de huevos puestos ($P < 0,05$).

Por su parte, Guo *et al.*, (2002), trabajaron con ponedoras Bovan de 51 semanas de edad que se diferenciaban en los niveles y en las formas de Zn, como $ZnSO_4$ y Availa-Zn®, donde el porcentaje de postura y el peso del huevo no se vieron afectados por los niveles o formas de Zn ($P > 0,05$). Lo mismo obtuvo Kidd *et al.*, (1992), en un estudio de 22 semanas con reproductoras broiler quienes encontraron que las dietas suplementadas con Zn (152 mg de Zn/kg de dieta como ZnO o Zn-Met) no modificaron el peso del huevo ni la producción del huevos, cuando se compararon a las aves alimentadas con la dieta control.

Padilla (2004) utilizó 180 aves leghorn Hy-Line w36 y las sometió a los mismos 3 tratamientos realizados en este estudio (tanto en suplementación como en fuentes minerales), desde 1 día de edad hasta 17 semanas (crianza) y de 18 a 27 semanas de edad (recría o inicio de postura) y sus parámetros productivos no mostraron diferencias significativas ($p > 0.05$) para fuente o nivel de suplementación.

Quinteros (2002) y Figueroa (2003) tampoco encontraron diferencias significativas para parámetros productivos en sus respectivos trabajos. Ellos utilizaron gallinas leghorn de la línea Hy-Line W-36, entre las 25 y 40 semanas de edad, las cuales fueron suplementadas con 40 ppm de Zn, 40 ppm de Mn y 10 ppm de Cu en sus formas de sulfato o como complejos metal aminoácido según

el tratamiento. Estos autores atribuyeron estos resultados a la edad de las aves y recomendaron hacer mediciones durante todo un periodo de producción.

Otro factor a considerar es el estrés al cual son eventualmente sometidas las aves. Al respecto, Jackson *et al.*, (1997) trabajaron con gallinas de postura comercial y usaron cuatro dietas: una control, la segunda con 40 ppm de Zn como sulfato, la tercera con 40 ppm de Zn metionina y la cuarta con 40 ppm de Zn metionina-lisina. Sometieron a las aves a tres niveles de temperatura distintos (frío: 18.3 - 21.1 °C, medio: 23.9 - 32.2 °C y caliente: 26.7 - 35 °C) . Se consideraron aves entre las 61 y 88 semanas de edad. En este estudio no se observaron diferencias ($p>0,05$) en el rendimiento productivo de las aves durante la pelecha. Aun así, la mortalidad disminuyó en los tratamientos que contenían minerales orgánicos. Durante el transcurso del experimento, la producción de huevos se incrementó numéricamente pero no significativamente, en las aves alimentadas con los complejos incluso en los regímenes de temperatura más altos.

La presente memoria, como se dijo con anterioridad, es la parte final de un estudio que abarcó a pollitas de un día, pasando por todo su primer ciclo productivo hasta el segundo período de postura después de una pelecha forzada. Los resultados de esta última parte del estudio (semanas 65 a 84) indican que no hay un efecto beneficioso atribuible a la suplementación de Zn, Mn y Cu en los parámetros: producción de huevos y peso huevo, independiente de la fuente de incorporación o de un efecto de la edad de las aves como piensan algunos investigadores. Otros autores postulan que los minerales orgánicos tienen en general un efecto positivo en la performance de las aves, particularmente en situaciones de estrés como podría ser la pelecha forzada a la cual se vieron

sometidas las aves en el presente estudio. No obstante en este caso, no se observaron efectos beneficiosos de la suplementación de las dietas con minerales orgánicos frente al estrés de la pelecha. Esto puede deberse a la raza de ave con la que se trabajó, pensando que la mayoría de los estudios realizados en el país han contemplado la utilización de aves Leghorn Hy-Line W-36. Puede que estas aves en particular no respondan a la suplementación con minerales orgánicos como si respondieron las del tipo Isa White o los pollos broilers.

Los requerimientos dietarios de minerales establecidos por la línea genética Hy-Line W-36 son de 66 ppm de Zn y Mn y 8.8 ppm de Cu en aves en producción por lo que ya en el tratamiento control de este trabajo se está dando una leve suplementación por sobre lo indicado en los aportes sugeridos por el manual de producción de la línea genética.

Otro factor a considerar es que estas aves con las cuales se trabajó, venían con la suplementación desde el primer día de vida por lo que se podría pensar en un efecto de acumulación (por ejemplo en hígado o páncreas) y/o de excreción de los minerales en exceso, lo cual podría enmascarar el efecto benéfico de los minerales orgánicos que sugieren algunos investigadores, durante este segundo ciclo de postura o al enfrentar un estrés como lo es una pelecha forzada.

Algo importante de discutir es porqué el peso del huevo en T2 fue menor a los otros dos tratamientos. Como observaremos más adelante en la parte de calidad de huevo, las aves suplementadas con minerales orgánicos tendieron a aumentar la relación yema/albúmina (Y/A) y también tendieron a mejorar la calidad de cáscara (medida en base a parámetros objetivos como el grosor, por ejemplo), esto puede tener relación con el peso del huevo puesto que el aumento

de la relación Y/A nos indica que la fracción albúmina es menor en el total del huevo y por consiguiente tenemos un huevo más pequeño que pesa menos. Por otro lado, la calidad de cáscara aumenta ya que al ser el huevo más pequeño, la cáscara se reparte en una superficie menor por lo que aumenta su grosor.

2.- Indicadores de calidad del huevo.

Parámetros de calidad externa del huevo de registro diario.

Respecto de la calidad externa del huevo, todos los indicadores medidos tuvieron diferencias significativas respecto del tiempo de muestreo ($p < 0.0001$) (ver **Tabla 6**).

Tabla 6: Efecto de la suplementación de zinc, manganeso y cobre de fuentes inorgánicas y orgánicas, sobre los indicadores de calidad externa del huevo³ entre las 65 y 84 semanas de edad considerando una pelecha forzada. Valores corresponden al promedio de cada tratamiento, para las 20 semanas experimentales

Tratamientos		Parámetros ⁵			
Minerales inorgánicos (ppm) ¹	Minerales orgánicos (ppm) ²	Huevos sucios (%)	Huevos trizados (%)	Huevos quebrados (%)	Huevos sin cáscara (%)
80/80/5	-	7.20ab	12.92	1.12a	0.61b
80/80/5	40/40/7	7.71a	13.40	3.00b	1.13ab
120/120/12	-	6.07b	11.10	2.0ab	1.31a
		Valores de probabilidad⁴			
Tratamiento		0.0134	0.1076	0.0034	0.0437
Tiempo muestreo		0.0001	0.0001	0.0009	0.0001
Interacción		0.9213	0.9497	0.5419	0.3079
		Análisis de contraste			
T1 vs. T2 y T3		0.6801	0.6229	0.3044	0.3559
T2 vs. T3		0.3146	0.3256	0.7576	0.6215

a,b Valores dentro de cada columna con subscripto diferente, difieren estadísticamente ($p < 0.05$)

¹ Niveles de Zn, Mn y Cu suministrados como ZnSO₄, MnSO₄ y CuSO₄, respectivamente.

² Niveles de Zn, Mn y Cu suministrados como complejos metal aminoácido.

³ Observaciones de registro diario expresadas como % semanal.

⁴ Valores de probabilidad ANDEVA bajo diseño de medidas repetidas en el tiempo.

⁵ Promedio total de 140 aves, (aprox. 48 aves por tratamiento) para todo el período experimental.

Al comparar entre tratamientos encontramos que para el indicador huevos trizados (HT) no se observaron diferencias significativas ($p > 0.05$). Por el contrario, sí se obtuvieron diferencias significativas en los indicadores huevos sucios (HS) ($p = 0.0134$), huevos quebrados (HQ) ($p = 0.0034$) y huevos sin cáscara (SC) ($p = 0.0437$). El porcentaje de HS del T2 (suplementado con minerales orgánicos) fue mayor ($p < 0,05$) al presentado por el T3. Sin embargo, el porcentaje de HS obtenido por el T1 (control) no fue diferente ($p > 0.05$) al observado en los otros dos tratamientos.

El porcentaje de HQ del T2 fue mayor ($p < 0,05$) al obtenido por el T1, a la vez que el T3 no fue distinto ($p > 0,05$) de T1 y T2. En cuanto a los huevos SC, el porcentaje obtenido por el T3 superó ($p < 0.05$) al del T1. El T2 no fue distinto ($p > 0,05$) del T1 y del T3. El análisis de contrastes no arroja ninguna diferencia estadística ($p > 0.05$) entre tratamientos. En general se esperaba un aumento en los defectos de la cáscara posterior a la pelecha ya que es un hecho fisiológico que a medida que el ave crece en edad los huevos van siendo más grandes, no así la cáscara, la cuál se debe distribuir en una superficie mayor por lo que se adelgaza.

Los resultados comentados se visualizan en su comportamiento longitudinal durante el período de estudio, en los **Gráficos 3, 4, 5 y 6**.

Gráfico 3: Producción de huevos trizados (como porcentaje) de las aves en estudio para cada tratamiento durante el segundo periodo de postura. Semanas 65 a 84.

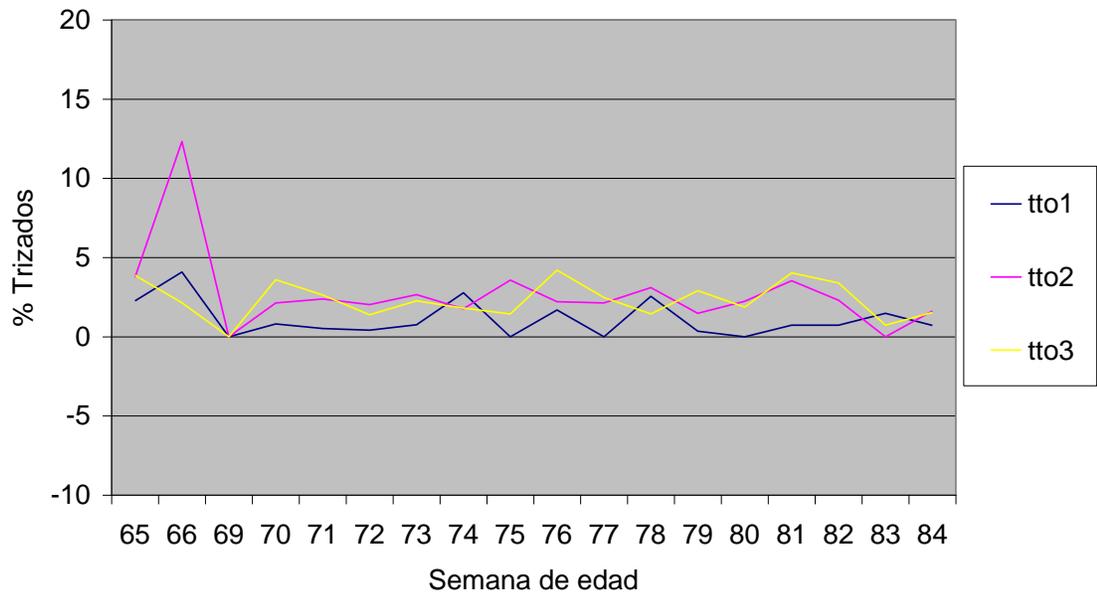


Gráfico 4: Producción de huevos sucios (como porcentaje) de las aves en estudio para los tres tratamientos durante el segundo periodo de postura. Semanas 65 a 84.

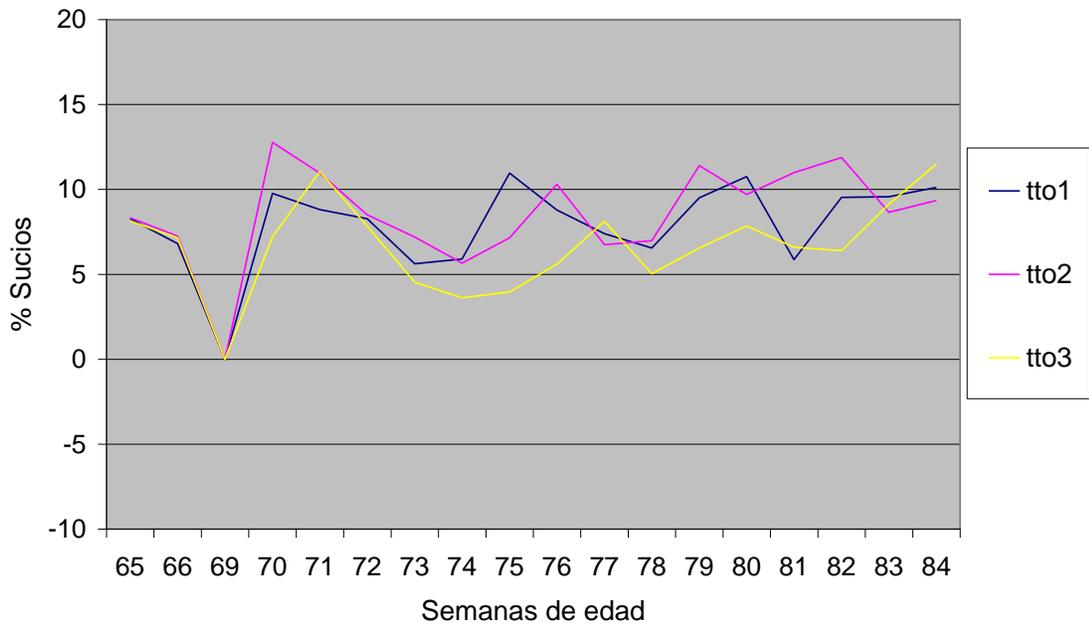


Gráfico 5: Producción de huevos quebrados (como porcentaje) de las aves en estudio para los tres tratamientos durante el segundo ciclo de postura. Semanas 65 a 84.

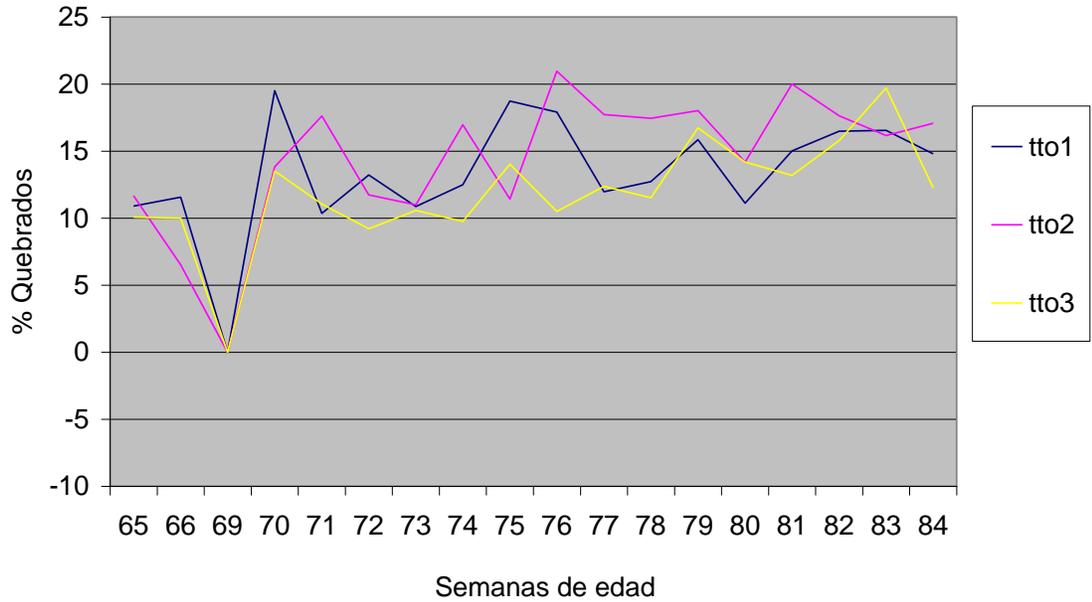
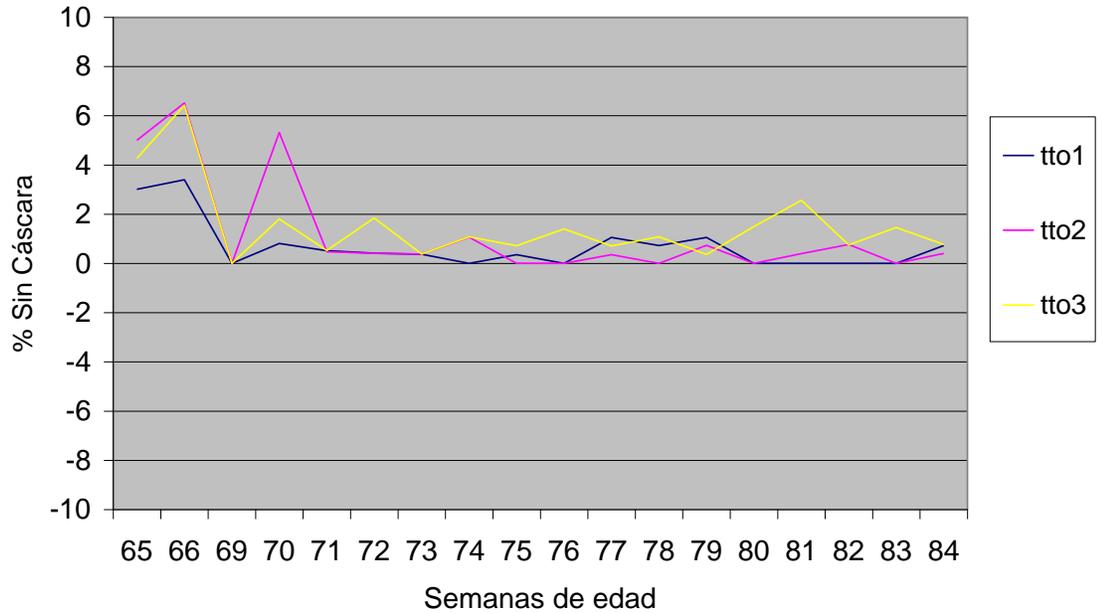


Gráfico 6: Producción de huevos sin cascara (como porcentaje) de las aves en estudio para los tres tratamientos durante el segundo período de postura. Semanas 65 a 84.



Quinteros (2002) evaluó el porcentaje de huevos trizados, quebrados, sin cáscara y sucios en un estudio que utilizó el mismo tipo de ponedoras de la presente experiencia. Describe que no obtuvo diferencias significativas ($p > 0.05$) entre los distintos tratamientos para estas variables. Sin embargo, destaca que para huevos quebrados el tratamiento que contenía la suplementación con minerales Zn, Mn y Cu en la forma de metal-aminoácido fue el que presentó un porcentaje numéricamente mayor que para los demás tratamientos lo que coincide en parte con lo observado en este estudio. Lo mismo observó para huevos sucios.

Guo *et al* (2002) comparó el efecto de distintos niveles de Zn orgánico (complejo metal-aminoácido) versus $ZnSO_4$ sobre el rendimiento y calidad de huevo en gallinas Bovan de postura comercial de 51 a 59 semanas de edad. Los resultados de estos autores indicaron que hubo un efecto tanto de la fuente como del nivel de suplementación. Es así como a las 55 semanas de edad de las aves, 80 ppm de Zn de ambas fuentes disminuyen el porcentaje de huevos quebrados ($p < 0.05$) y a las 59 semanas son necesarias 160 ppm de $ZnSO_4$ y sólo 120 ppm de Zn orgánico para lograr el mismo efecto. Esto se contrapone con lo observado en el presente estudio.

Indicadores de calidad externa e interna de huevo de registro mensual.

Las muestras fueron tomadas las semanas 73, 77 y 82 de edad de las gallinas. El promedio de estas determinaciones se muestra en las **Tablas 7 y 8**.

No se encontraron diferencias significativas ($p > 0.05$) entre tratamientos para los parámetros gravedad específica (GE), deformación de la cáscara (DC), resistencia a la fractura (RF) y grosor de cáscara (GC) (**Tabla 7**).

Tabla 7: Efecto de la suplementación de zinc, manganeso y cobre de fuentes orgánicas e inorgánicas sobre indicadores de la calidad externa del huevo³, en ponedoras Leghorn entre las 65 y 84 semanas de edad, en su segundo ciclo productivo, posterior a una pelecha forzada.

Tratamiento			Parámetro			
	Minerales inorgánicos (ppm) ¹	Minerales orgánicos (ppm) ²	Gravedad específica	Deformación de la cáscara (mm)	Resistencia a la fractura (g)	Grosor cáscara (mm)
1	80/80/5	-	1.086	0.357	2514.19	0.310
2	80/80/5	40/40/7	1.087	0.367	2741.50	0.316
3	120/120/12	-	1.086	0.364	2590	0.312
			Valores de probabilidad⁴			
Tratamiento			0.8008	0.7313	0.0791	0.4477
Tiempo muestreo			0.0741	0.7286	0.3845	0.0001
Interacción			0.1162	0.4254	0.6133	0.2791
			Análisis de contraste			
T1 vs. T2 y T3			0.6072	0.3173	0.3969	0.3909
T2 vs. T3			0.3293	0.6642	0.4524	0.4607

a,b Valores dentro de cada columna con subscripto diferente, difieren estadísticamente ($p < 0.05$)

¹ Niveles de Zn, Mn y Cu suministrados como ZnSO₄, MnSO₄ y CuSO₄, respectivamente.

² Niveles de Zn, Mn y Cu suministrados como complejos metal-aminoácido.

³ Valores corresponden al promedio de tres análisis mensuales en laboratorio Cerpram. Facultad de Cs. Veterinarias y Pecuarias. U. de Chile.

⁴ Valores de probabilidad ANDEVA bajo diseño factorial 3 x 3 (3 tratamientos x 3 muestreos).

⁵ Promedio total de 140 aves, (aprox. 48 aves por tratamiento) para todo el período experimental.

Los parámetros: unidades haugh (UH), color de yema (CY), relación peso yema/albúmina (Y/A^P), relación volumen yema/albúmina (Y/A^V) tampoco mostraron diferencias significativas ($p > 0.05$) entre tratamientos (**Tabla 8**).

Tabla 8 Efecto de la suplementación de zinc, manganeso y cobre de fuentes orgánicas e inorgánicas sobre indicadores de la calidad interna del huevo⁴, en ponedoras Leghorn entre las 65 y 84 semanas de edad, en su segundo ciclo productivo, posterior a una pelecha forzada.

Tratamiento			Parámetro ⁶			
	Minerales inorgánicos (ppm) ¹	Minerales orgánicos (ppm) ²	Unidades Haugh	Color yema	Relación Y:A ³ (peso)	Relación Y:A (vol)
1	80/80/5	-	86.13	7.38	0.462	0.495
2	80/80/5	40/40/7	86.87	7.08	0.473	0.514
3	120/120/12	-	87.41	7.19	0.465	0.499
			Valores de probabilidad⁵			
Tratamiento			0.7357	0.1273	0.4966	0.1552
Tiempo muestreo			0.8337	0.0001	0.5169	0.0166
Interacción			0.6070	0.8956	0.9986	0.5885
			Análisis de contraste			
T1 vs. T2 y T3			0.3277	0.3177	0.4225	0.4482
T2 vs. T3			0.6138	0.6619	0.4228	0.4001

a,b Valores dentro de cada columna con subscripto diferente, difieren estadísticamente ($p < 0.05$)

¹ Niveles de Zn, Mn y Cu suministrados como ZnSO₄, MnSO₄ y CuSO₄, respectivamente.

² Niveles de Zn, Mn y Cu suministrados como complejos metal-aminoácido.

³ Y:A Relación yema: albúmina.

⁴ Valores corresponden al promedio de tres análisis mensuales en laboratorio Cerpram. Facultad de Cs. Veterinarias y Pecuarias. U. de Chile.

⁵ Valores de probabilidad ANDEVA bajo diseño factorial 3 x 3 (3 tratamientos x 3 muestreos).

⁶ Promedio total de 140 aves, (aprox. 48 aves por tratamiento) para todo el período experimental.

El comportamiento de los tratamientos en los tres muestreos realizados, se puede apreciar en los **Gráficos 7, 8, 9, 10, 11, 12 y 13**. Cabe destacar que el T2, en promedio, superó numéricamente ($p > 0,05$) a los otros tratamientos, en los parámetros RF y Y/A^P para las tres mediciones y en dos mediciones para Y/A^V.

Gráfico 7: Gravedad específica

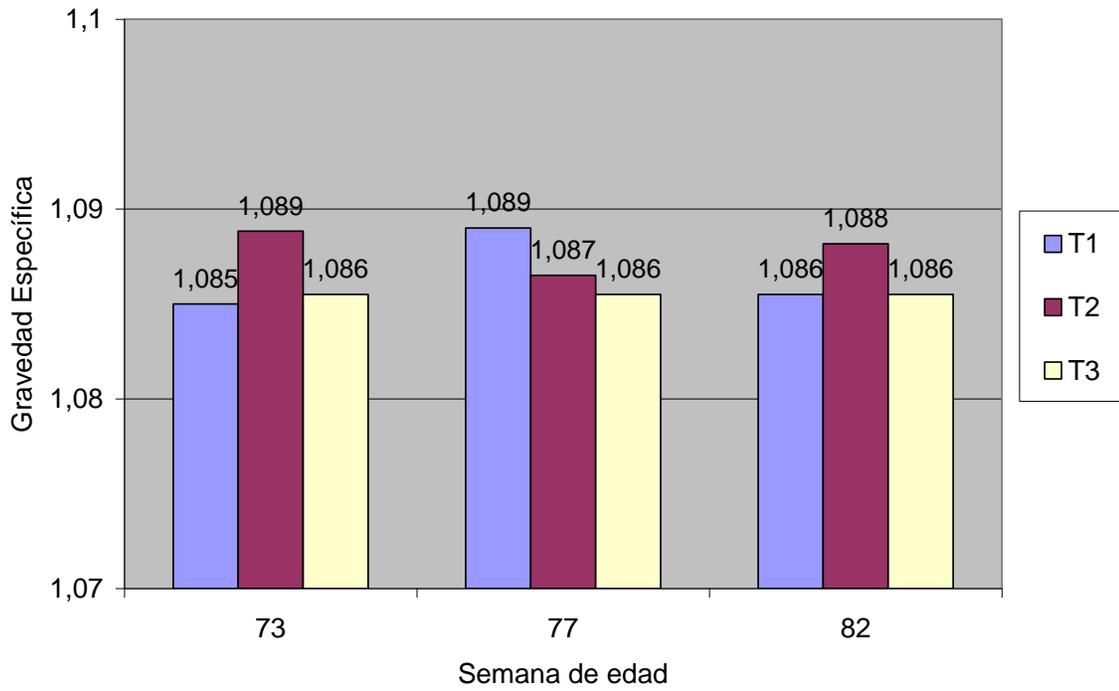


Gráfico 8: Deformación de la cascara

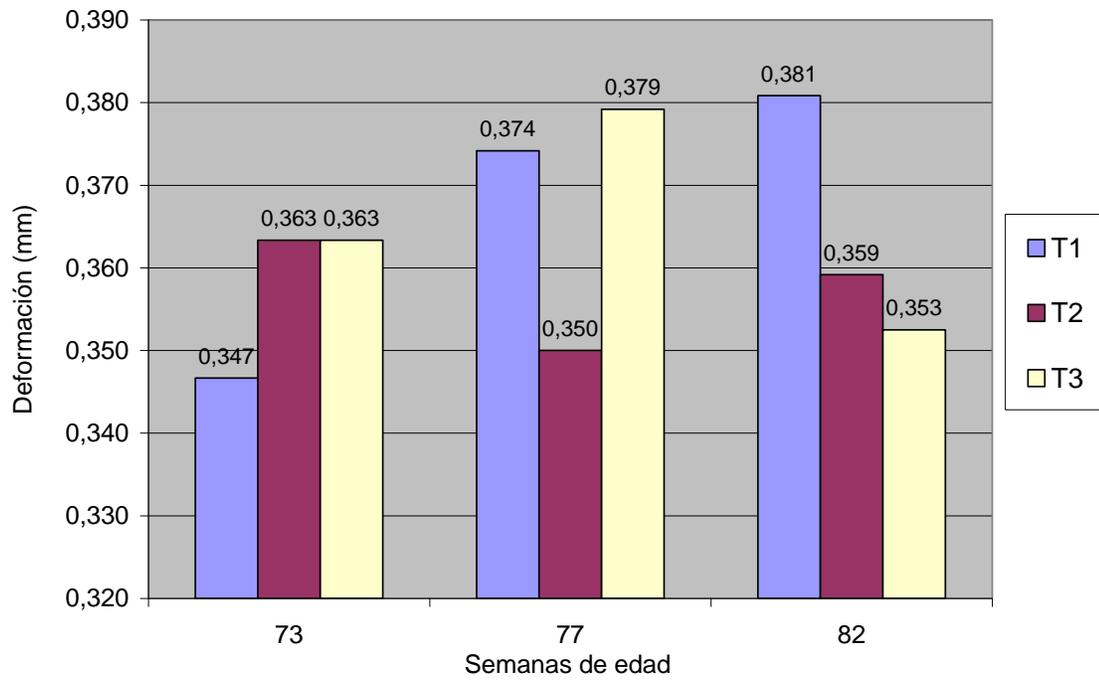


Gráfico 9: Resistencia a la fractura

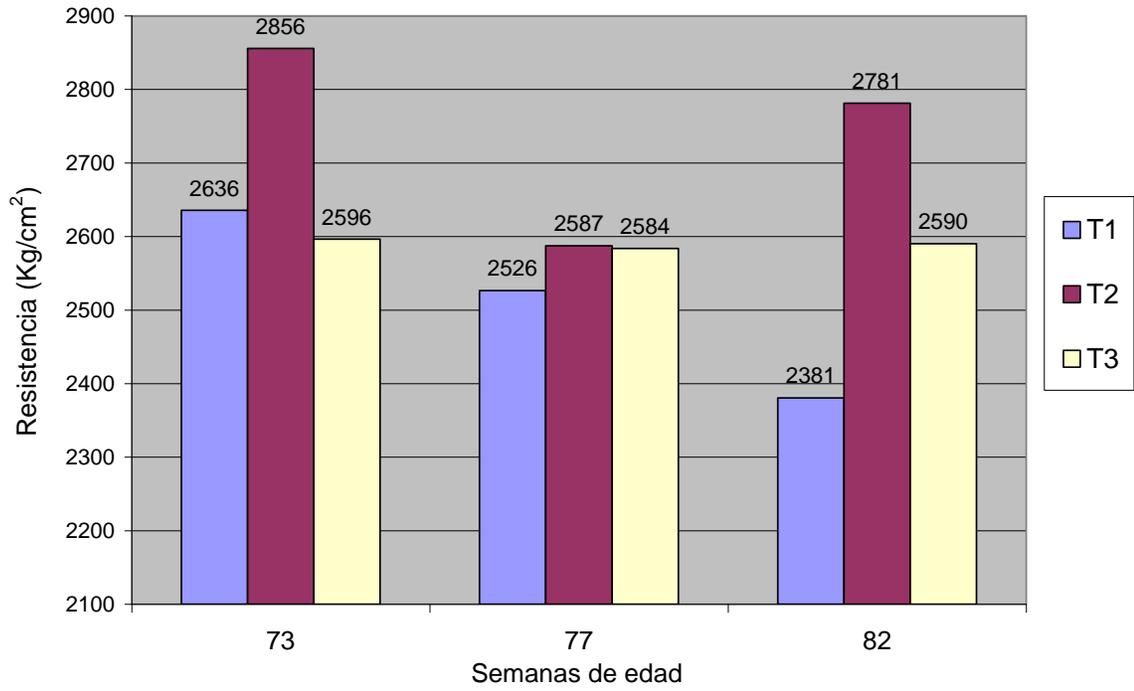


Gráfico 10: Unidades Haugh

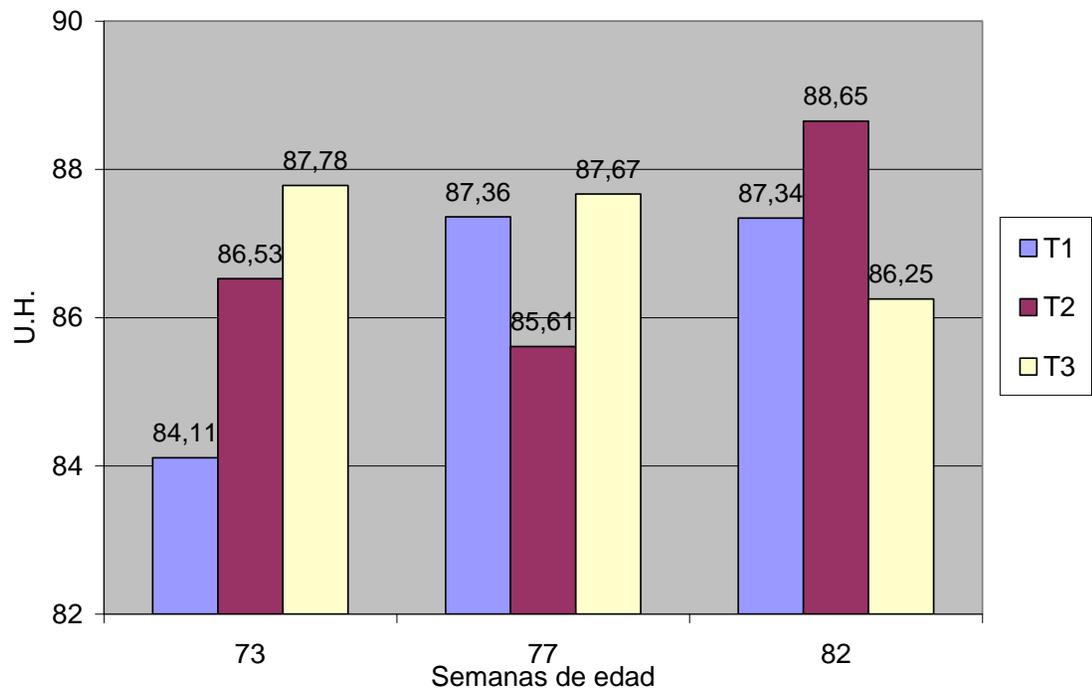


Gráfico 11: Relación peso Y:A

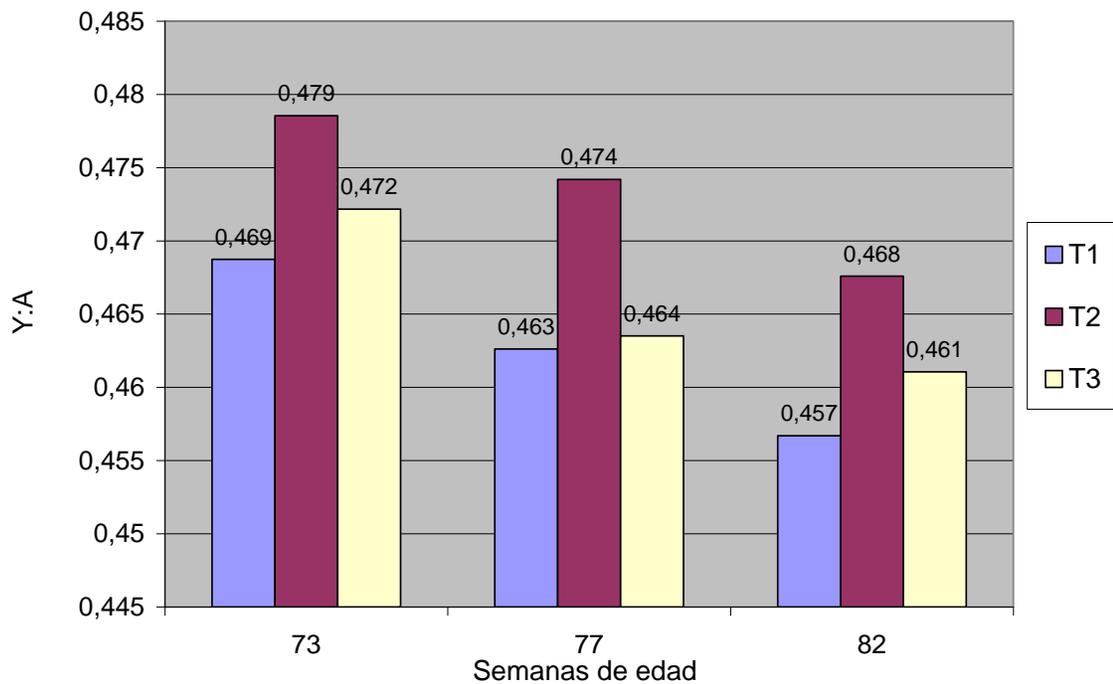


Gráfico 12: Relación volumen Y:A

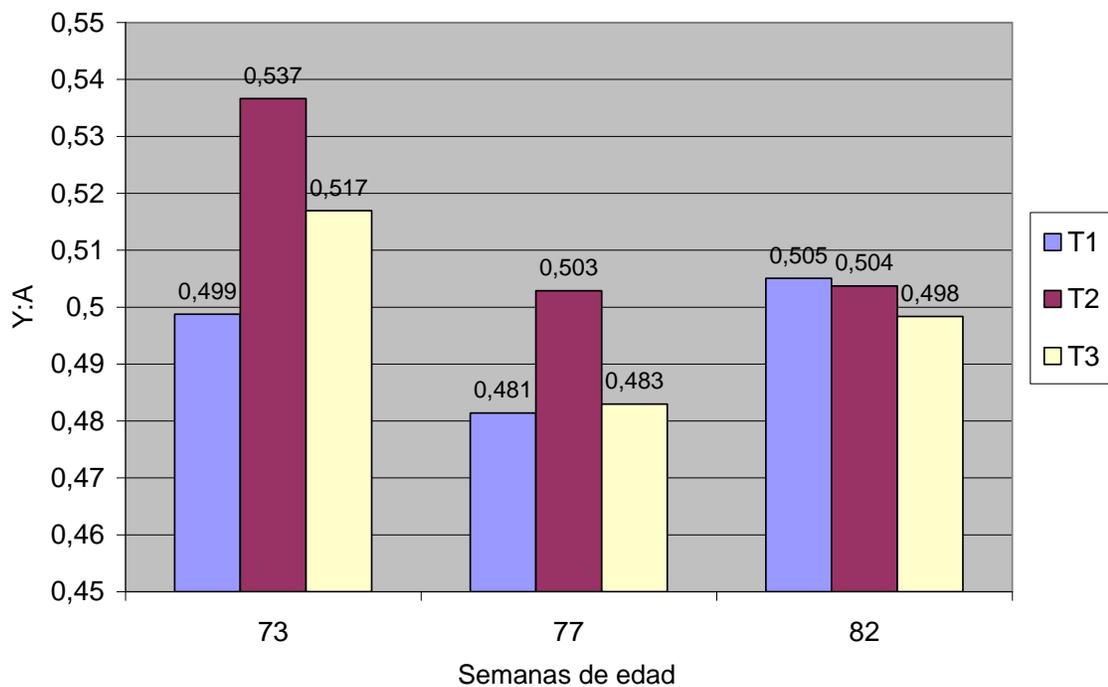
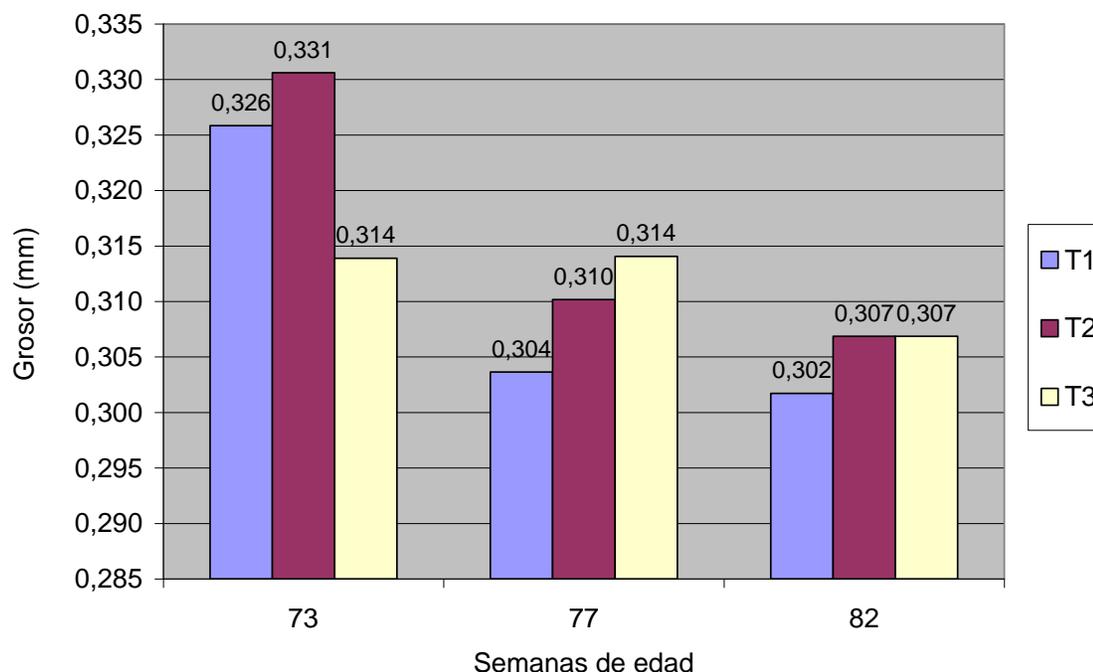


Gráfico 13: Grosor de cáscara.



Esto concuerda con lo encontrado por Quinteros (2002), quien no encontró diferencias significativas ($p > 0.05$) para GE, GC, RF, UH y CY. Chica (2002) y Padilla (2004) tampoco encontraron diferencias significativas para estos indicadores. Estos autores atribuyen esta falta de respuesta a la edad de las aves, al nivel de suplementación y a la duración del período experimental. Sin embargo, en el período de evaluación de esta memoria que abarca las semanas 65 a 84 de las aves y con los mismos niveles de suplementación tampoco se observó un efecto sobre estas variables.

Los resultados de este estudio también concuerdan con un trabajo realizado por Holder y Huntley (1978), los cuales utilizaron ponedoras Leghorn de 23 semanas y las suplementaron con 65 ppm de $MnSO_4$ o 130 ppm de ZnO . Estos autores no encontraron un mejoramiento en parámetros como GC y GE

entre otros. Abadía *et al.* (1994) trabajó con ponedoras de 48 semanas de edad y las suplementó con 35ppm de Zn, 60 ppm de Mn y 6 ppm de Cu de fuentes inorgánicas. No observó mejoras ($p>0,05$) en los parámetros peso cáscara, porcentaje de cáscara y GE.

Un estudio en el cual si se observaron mejoras en calidad de huevo fue el realizado por Klecker *et al.* (1997). En este estudio suplementaron ponedoras desde los 140 a 500 días de edad con Zn y Mn de fuentes inorgánicas (suplementaciones de 20 y 70%) y orgánicas como metal-proteinatos (0, 20 y 40% de suplementación), logrando en todas las dietas tener niveles de 60 ppm de Mn y 50 ppm de Zn. Los parámetros RF y GC se incrementaron en todas las dietas con 20 a 40% de suplementación con metal-proteinatos ($p<0,05$).

Moreng *et al.* (1992) al suplementar con 80 ppm de Zn-metionina a gallinas de 60 semanas de edad expuestas a altas temperaturas (35°C) y agua de bebida con 2 g/lit de sal, observó una mejora en RF y peso de la cáscara y una disminución en porcentaje de defectos de la cáscara comparado con el grupo que no recibió Zn-metionina en su dieta.

Por otra parte Lima *et al* (2000) postulan que la suplementación de Zn y Mn solos o en combinación, mejoran la calidad del huevo ya sea de fuentes inorgánicas como de complejos orgánicos. Para tal efecto emplearon ponedoras Babcock de 34 a 58 semanas de edad las cuales fueron suplementadas con Zn y/o Mn de fuentes inorgánicas (óxido y sulfato respectivamente) y de fuentes orgánicas (complejos metal-aminoácido) en concentraciones de 0 a 40 ppm. A las 58 semanas observaron que la suplementación de Mn (independiente de la adición de Zn) mejoró ($p<0.05$) el porcentaje de cáscara, la gravedad específica y

el grosor de la cáscara. Esta mejora se vio tanto con el uso de sulfato como de mineral orgánico. En resumen, se mejoró la calidad de la cáscara entre otros parámetros. El presente estudio también se contrapone a lo observado por Lima *et al.*, (2000).

Nuevamente se puede suponer que hay un efecto de raza y/o línea genética, ya que los investigadores que acusan resultados positivos, por lo general ocuparon razas de aves distintas a la de este estudio (ejemplo: Babcock, Isa White, Broilers Cobbs, etc.). Los estudios en que se suplementan aves Leghorn Hy-Line W-36 con Zn, Mn y Cu no han obtenido resultados satisfactorios, posiblemente porque con el control (80ppm de Zn y Mn y 5ppm de Cu) se satisfacen sus requerimientos y no es necesaria una suplementación más allá de estos niveles. Esta línea genética en particular tiene un carácter nervioso y en este estudio se vio que sobretodo las aves del tratamiento 2, eran las más inquietas. Esta es una afirmación subjetiva, pero cuya base es la observación diaria de las aves que se efectuó durante todo el estudio. Además se observó mayor picaje y aplastamiento de huevos en las gallinas del tratamiento 2.

Hay que considerar también que pudo haber errores o problemas en la clasificación de huevos trizados, quebrados y/o sucios, ya que el método utilizado fue el de observación directa de los huevos mediante inspección visual, lo cual puede ser muy subjetivo dependiendo si era siempre la misma persona o si eran dos o tres los que clasificaban (como ocurrió).

Curiosamente el tratamiento que tuvo el mayor porcentaje de huevos trizados y quebrados, 13,4 % y 3% respectivamente (ver **Tabla 6**), fue el suplementado con minerales orgánicos (T2) y en el análisis de calidad interna fue

éste tratamiento el que obtuvo mayor grosor de cáscara, deformación y resistencia a la fractura (ver **Tabla 7**), entonces: ¿por qué este tratamiento tuvo los mas altos porcentajes de huevos trizados y quebrados si eran los de cáscara más resistente? (numéricamente hablando). Pudo haber errores de criterio en la clasificación por el método utilizado o el mencionado picaje en las aves de T2 fue importante pero no se puede asegurar ya que no hubo medición de éste.

Por otro lado, el hecho de que las aves ya hayan venido con la misma suplementación desde el primer día de edad es un factor que, como se sugiere anteriormente, puede enmascarar los posibles efectos positivos en esta etapa productiva.

Una observación que merece mención especial es el aumento del peso y volumen de la yema en relación a la albúmina en los huevos de gallinas suplementadas con minerales orgánicos. Aún cuando esta diferencia no fue significativa ($p > 0,05$) existe una tendencia que puede ser importante en aves reproductoras, en donde el embrión en desarrollo y el pollito recién nacido se podrían beneficiar cuando la yema aumenta de tamaño.

Esta tendencia también se puede observar en el trabajo de Miranda (2004), quien trabajó con las mismas aves de este estudio en el periodo comprendido entre las 27 a 64 semanas de edad. La relación Y/A para peso tiene una leve superioridad numérica pero no estadística ($p > 0,05$) en el T2 por sobre el T1 y el T3. No ocurre lo mismo para la relación Y/A para volumen en donde el T3 es superior numéricamente ($p > 0,05$) a T1 y T2.

3. Respuesta inmune.

En las **tablas 9, 10 y 11** se resumen los resultados del efecto de la suplementación mineral, sobre los indicadores de respuesta inmune: títulos de anticuerpos pre y post vacunación para Enfermedad de Newcastle (ENC), Bronquitis Infecciosa (BI) y *Salmonella enteritidis* (SE) de las gallinas en estudio.

Tabla9: Efecto de la suplementación de Zn, Mn y Cu de origen orgánico e inorgánico sobre la generación de respuesta inmune³ para Enf. De Newcastle (ENC) durante el segundo período de producción o ciclo de postura.

Tratamiento			Parámetro			
			ENC			
	Minerales inorgánicos (ppm) ¹	Minerales orgánicos (ppm) ²	Título Elisa basal	Título Elisa post vacuna	% de cambio	C.V.
1	80/80/5	-	16112	19991	24.08	12.67
2	80/80/5	40/40/7	15766	20718	31.41	16.82
3	120/120/12	-	15512	20242	30.49	16.77
			Valores de probabilidad			
Tratamiento			0.7367			
Tiempo muestreo			00001			
Interacción			0.4823			
			Análisis de contraste			
T1 vs. T2 y T3			0.9736			
T2 vs. T3			0.2930			

a,b Valores dentro de cada columna con subscripto diferente, difieren estadísticamente ($p < 0.05$)

¹ Niveles de Zn, Mn y Cu suministrados como ZnSO₄, MnSO₄ y CuSO₄, respectivamente.

² Niveles de Zn, Mn y Cu suministrados como Availa Zn®, Availa Mn® y Availa Cu®, respectivamente.

³ Respuesta medida cuatro semanas post vacunación.

⁴ Promedio total de 140 aves, (aprox. 48 aves por tratamiento) para todo el período experimental.

Tabla 10: Efecto de la suplementación de Zn, Mn y Cu sobre la generación de respuesta inmune³ para Bronquitis infecciosa (BI) durante el segundo período de producción

Tratamiento			Parámetro			
			BI			
	Minerales inorgánicos (ppm) ¹	Minerales orgánicos (ppm) ²	Título Elisa basal	Título Elisa post vacuna	% de cambio	C.V.
1	80/80/5	-	8268	16091	94.62	39.16
2	80/80/5	40/40/7	7086	15833	123.44	50.05
3	120/120/12	-	8089	14654	81.16	48.43
			Valores de probabilidad			
Tratamiento			0.7070			
Tiempo muestreo			0.0001			
Interacción			0.5901			
			Análisis de contraste			
T1 vs. T2 y T3			0.2946			
T2 vs. T3			0.9014			

a,b Valores dentro de cada columna con subscripto diferente, difieren estadísticamente ($p < 0.05$)

¹ Niveles de Zn, Mn y Cu suministrados como ZnSO₄, MnSO₄ y CuSO₄, respectivamente.

² Niveles de Zn, Mn y Cu suministrados como Availa Zn®, Availa Mn® y Availa Cu®, respectivamente.

³ Respuesta medida cuatro semanas post vacunación.

⁴ Promedio total de 140 aves, (aprox. 48 aves por tratamiento) para todo el período experimental.

Tabla 11: Efecto de la suplementación de Zn, Mn y Cu sobre la generación de respuesta inmune³ para *Salmonella enteritidis* (SE) durante el segundo período de producción

Tratamiento			Parámetro			
			SE			
	Minerales inorgánicos (ppm) ¹	Minerales orgánicos (ppm) ²	D.O. ⁴ Elisa basal	D.O. Elisa post vacuna	% de cambio ⁵	C.V.
1	80/80/5	-	0.912	0.386	-57.68	101.54
2	80/80/5	40/40/7	0.879	0.388	-55.86	97.67
3	120/120/12	-	0.907	0.307	-66.15	100.32
			Valores de probabilidad			
Tratamiento			0.9685			
Tiempo muestreo			0.0002			
Interacción			0.9455			
			Análisis de contraste			
T1 vs. T2 y T3			0.3801			
T2 vs. T3			0.4773			

a,b Valores dentro de cada columna con subscripto diferente, difieren estadísticamente ($p < 0.05$)

¹ Niveles de Zn, Mn y Cu suministrados como ZnSO₄, MnSO₄ y CuSO₄, respectivamente.

² Niveles de Zn, Mn y Cu suministrados como Availa Zn®, Availa Mn® y Availa Cu®, respectivamente.

³ Respuesta medida cuatro semanas post vacunación.

⁴ D.O.: Densidad óptica. Es inversamente proporcional a la cantidad de anticuerpos presentes en una muestra.

⁵ Porcentajes negativos ya que representan una disminución de las D.O.

⁶ Promedio total de 140 aves, (aprox. 48 aves por tratamiento) para todo el período experimental.

Según lo esperado, hubo diferencias significativas en cuanto a tiempo de muestreo (entre el título basal y el título post vacunación) en todos los tratamientos para la generación de anticuerpos contra Enfermedad de Newcastle (ENC) ($p < 0.0001$), Bronquitis Infecciosa (BI) ($p < 0.0001$), y *Salmonella enteritidis* (SE) ($p = 0.0002$). Sin embargo, no se observaron diferencias significativas ($p > 0.05$) entre tratamientos para los títulos de anticuerpos generados por las vacunaciones a las tres enfermedades.

Cabe destacar que de acuerdo al % de cambio en los títulos de anticuerpos pre y post vaccinales, el T2 suplementado con minerales orgánicos fue el que generó el mayor aumento en los títulos de anticuerpos para las tres enfermedades ($p > 0,05$). En los **Gráficos 14,15 y 16**, se observa más claramente el comportamiento de estas variables de respuesta inmune entre tratamientos.

Gráfico 14: Títulos de anticuerpos para los tres tratamientos, contra Enfermedad de Newcastle (ENC) pre y post vacunación en aves de segundo ciclo de postura.

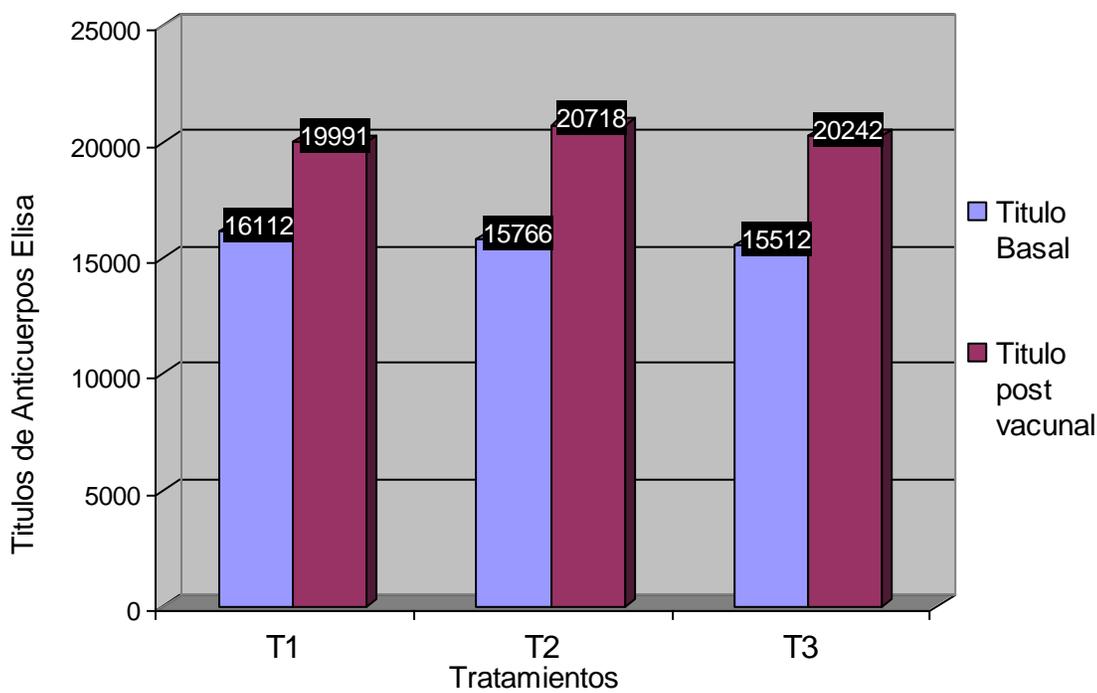


Gráfico 15: Títulos de anticuerpos para los tres tratamientos, contra Enfermedad de Bronquitis Infecciosa (BI) pre y post vacunación en aves de segundo ciclo de postura

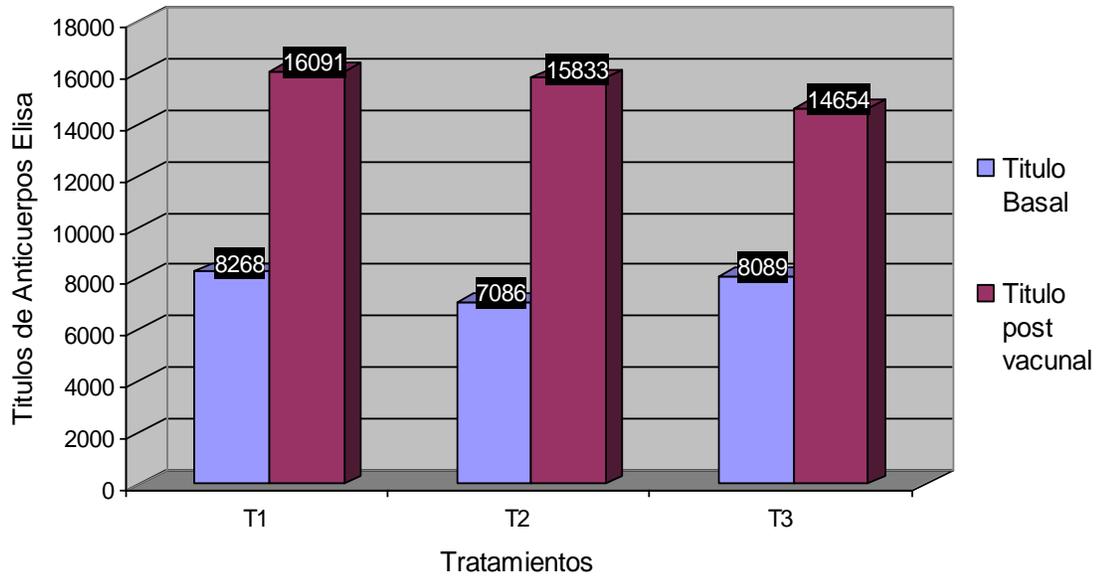
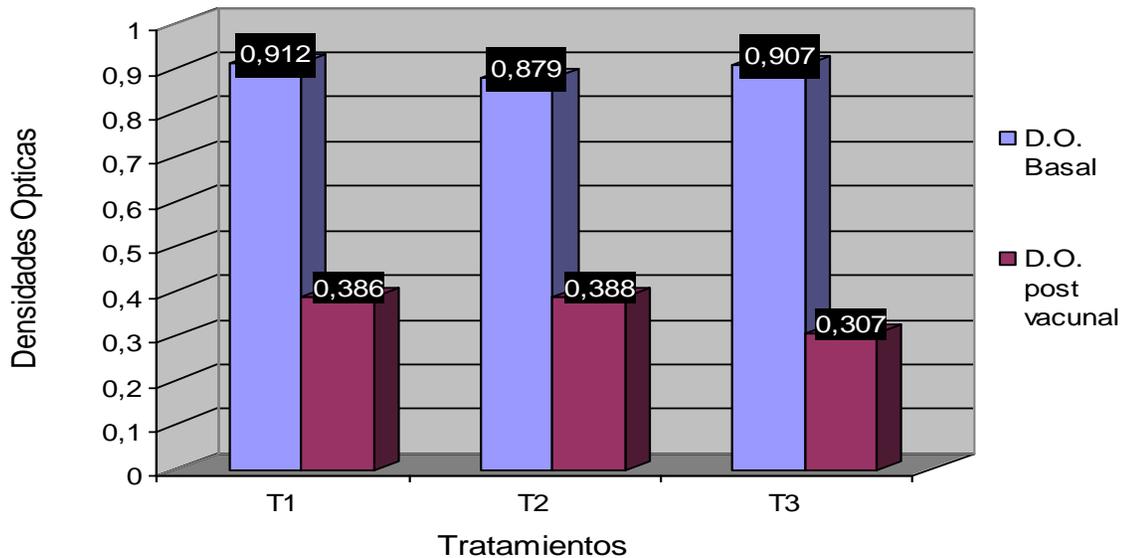


Gráfico 16: Niveles de acs para *Salmonella enteritidis* (SE) en cada tratamiento pre y post vacunación de aves en segundo periodo productivo, expresados en densidades opticas O.D



Los resultados de la presente investigación concuerdan con los obtenidos por Padilla (2002) quien trabajando con las mismas aves y por lo tanto la misma línea genética (pollitas desde un día hasta las 26 semanas de edad), no encontró diferencias significativas para la respuesta de anticuerpos contra ENC y BI debida a la suplementación de minerales Zn, Mn y Cu orgánicos (complejos metal-aminoácido) o como consecuencia del uso de niveles mas altos de suplementación de estos minerales en su forma inorgánica.

En contraposición a este hecho, en el estudio hecho en aves de la línea Coob por Khajarn *et al.* (2002a), se encontró un aumento ($p < 0,05$) de los títulos de anticuerpos para ENC mediante un test de inhibición de la hemoaglutinación (HI) de 14,51% 15,55% y 8,86% a las 12, 16 y 34 semanas de edad respectivamente, a favor de las aves suplementadas con Zn y Mn orgánicos (complejo metal-aminoácido) al compararlos con los títulos de aves alimentadas solo con minerales inorgánicos (control). Para los títulos de anticuerpos contra Enfermedad de Gumboro (IBD) obtenidos mediante test de Elisa, se informó una superioridad numérica ($p > 0,05$) por sobre el control en aves de 4 a 34 semanas de edad y diferencias significativas ($p < 0,05$) se observaron a las 4, 8 y 20 semanas de edad (incrementos de los títulos del orden de 24,14%, 44,14% y 9,35% para las semanas respectivas a favor de las aves suplementadas con las fuentes orgánicas). Lo mismo ocurrió para títulos contra BI (ELISA) a las 8, 28 y 34 semanas de edad (20,48%, 23,14% y 19,11% de incremento en los títulos de anticuerpos) en las aves alimentadas con el complejo metal-aminoácido de Zn y Mn comparados con el control (Khajarn, 2002a)

Johnson y Fakler (1998), utilizaron pavos de 4 semanas de edad para demostrar que la suplementación con minerales traza orgánicos, tiene una directa

relación con el incremento de la respuesta inmune celular y humoral. Se observó que mayores niveles de Zn y Mn mejoraban la respuesta inmune humoral (medida por la generación de títulos de anticuerpos), de manera significativa (al aumentar en 8 veces los títulos de inmunoglobulina G,) en los tratamientos que recibieron una suplementación de 40 ppm de Zn (a partir de Zn-Metionina) y de 40 ppm de Mn (a partir de Mn-Metionina) con respecto al tratamiento control (sin suplementación mineral orgánica). El tratamiento con suplementación orgánica también logró mejorar la respuesta inmune celular, aumentando en un 35% la habilidad fagocítica de los macrófagos.

Hudson *et al* (2003), realizaron un experimento con gallinas reproductoras broiler Cobb 500, alimentadas con dietas suplementadas con Zn, a partir de ZnSO₄, complejo metal-aminoácido de Zn y una mezcla de ZnSO₄ y el complejo (80 ppm de Zn cada uno). Se determinó que los títulos de anticuerpos a ENC fueron más elevados ($p < 0,05$) para el tratamiento con mineral orgánico. Los datos de este experimento indicaron que la adición de un complejo metal aminoácido de Zn en dietas de reproductores broiler mejoró la respuesta inmune.

Respecto a los resultados de ELISA para *Salmonella enteritidis* del presente estudio, ellos coinciden con lo informado por Figueroa (2003) quien no encontró diferencias significativas ($p > 0,05$) en las densidades ópticas obtenidas entre los distintos tratamientos. Hay que recordar que los anticuerpos para SE se expresan como densidades ópticas, las cuales son inversamente proporcionales a la cantidad de anticuerpos presentes.

La compañía Zinpro Corporation (2002) realizó un estudio (TB-P7008, 2002) donde suplementaron dietas de reproductoras broilers entre las 0 y 65

semanas de edad con 40 ppm de Zn y 40 ppm de Mn en forma de complejo metal aminoácido. Los resultados demostraron que hay un mejoramiento de la respuesta humoral, incrementando los títulos de anticuerpos contra ENC, IBD y BI, detectados mediante ELISA, comparado con una dieta control con 75 ppm de Zn como ZnO y 90 ppm de Mn como MnSO₄.

Los resultados del presente estudio, podrían explicarse por el hecho de que se trabajó con aves que ya habían sido vacunadas anteriormente contra ENC y BI (no así para SE) y por lo tanto tenían un nivel de anticuerpos que podría enmascarar un posible efecto positivo de los minerales orgánicos. Los niveles altos de anticuerpos logrados nos indican que no hubo errores en la aplicación de la vacuna. Aún así hay que destacar que el porcentaje de cambio de los títulos de anticuerpos, como consecuencia de la vacunación fue importante numéricamente pero no estadísticamente, incluso para la determinación de SE. Lo anterior podría indicar que para evaluar el efecto de estos nutrientes en la respuesta inmune a una vacunación se requiere un número de observaciones muy superior al realizado en el presente estudio. La respuesta inmune a la vacunación tuvo una elevada variabilidad. (Ver coeficientes de variación (CV) en las **Tablas 9, 10 y 11**)

Por otra parte hay que pensar que estas aves venían con una suplementación desde el primer día de edad lo que nos lleva nuevamente a la pregunta de si es que hubo un efecto de acumulación y/o excreción tal, que en este período no hubo cambios positivos a favor de los minerales orgánicos como se esperaba. El efecto de la fuente queda descartado ya que hay estudios que muestran resultados favorables para los complejos metal-aminoácido y otros que no obtuvieron beneficios al incorporarlos. Con el nivel de incorporación de los minerales ocurre algo similar ya que se han ocupado niveles similares en distintos

estudios, con resultados contradictorios. Nuevamente podríamos pensar en un efecto de la línea genética y al tipo de ave ya que los resultados positivos respecto de inmunidad han sido informados en pollos broilers y pavos.

CONCLUSIONES

Basados en los resultados obtenidos en esta memoria podemos concluir que:

1. La suplementación adicional de Zn (40ppm), Mn (40ppm) y Cu (7ppm) en la dietas de gallinas de postura, independiente de la fuente empleada, no influyó los indicadores productivos como tampoco la calidad interna y externa de los huevos durante el segundo periodo de postura comprendido entre las 65 y 84 semanas de edad.
2. Para futuros estudios se hace necesario diseñar un sistema objetivo de evaluación de alteraciones externas de los huevos.
3. Aún cuando no existieron diferencias significativas, las aves que recibieron la suplementación orgánica fueron levemente superiores en los indicadores de calidad de cáscara y relación Y:A lo cual debe ser investigado más a fondo en futuras experiencias.
4. Las fuentes minerales orgánicas no influenciaron significativamente la respuesta inmune humoral de las aves frente a una vacunación contra las enfermedades de ENC, BI y SE, sin embargo los títulos de anticuerpos, en las aves suplementadas con complejos orgánicos fueron numéricamente mas elevados. Lo anterior indica que en futuras experiencias se debe aumentar el número de muestras para intentar detectar una diferencia significativa.

5. Sería bueno considerar en estudios futuros la inclusión de un tratamiento que tuviera complejos orgánicos como única fuente de aporte mineral. Por problemas de manejo y espacio este estudio no incluyó ese posible tratamiento el cual, de ser implementado, nos daría luces del real efecto de las fuentes minerales orgánicas por si solas sobre el rendimiento de las aves.

BIBLIOGRAFÍA

A.A.F.C.O., Association of american feed control officials. 1997. Official publication. Atlanta, GA.

ABADÍA, A.G.; HARMS, R.H.; WILSON, H.R.; EL-HUSSEINY, O. 1994. Effect of removing trace minerals from the diet of hen laying with heavy or light shell weight. Poultry Science. 73:295-301.

AMMERMAN, C.B.; HENRY, P.R.; MILES, R.D. 1995. Bioavailability of nutrients for animals: amino acids, minerals and vitamins. Academic Press, New York, N.Y.

ANON. 1998. Performance and bioavailability of availa zn, zinc aminoacid complex in broilers. Internal Technical Bulletin. Zinpro Corporation 18 Diciembre 1998. Pp 1-5. N° B.V-9643.

AOYAGI, S.; BAKER, D.H. 1993a. Bioavailability of copper in analitical-grade and feed-grade innorganic copper sources when fed to provide cooper at levels below chicks requeriment. Poultry Science 72: 1075-1083.

AOYAGI, S.; BAKER, D.H. 1993b. Nutritional evaluation of copper-methionine complex for chicks. Poultry Science 72: 2309-2315.

AOYAGI, S.; BAKER, D.H. 1993c. Nutritional evaluation of copper-lysine and zinc-lysine complex for chicks. Poultry Science 72: 165-171.

ARIAS, J.L; FERNANDEZ, M.S. 1993. Molecular control of avian eggshell biomineralization. Proc. 5th Europ. Symp. Egg Quality & Products, France, pp. 116-126.

ASOHUEVO, Asociación de productores de huevos. 2005. Publicaciones electrónicas, <<http://www.asohuevo.cl>> [Consulta: Diciembre 2005].

BERRY, W.D. 2003. The physiology of induced molting. Poultry Science 82:971-980.

CHICA, J. 2002. Efecto de recursos orgánicos de zinc, manganeso y cobre (Availa Zn®, Availa Mn® y Availa Cu®) sobre estatus mineral, producción y calidad del huevo de gallinas comerciales. Tesis Magíster en Ciencias Agropecuarias Mención Producción Animal. Universidad de Chile. 89 p.

CHOWDHURY, S.D.; DAVIS, R.H. 1989. Comparison of the effects of two lathyrogens on the reproductive system of the laying hen. Veterinary Record.124: 240-242.

CHOWDHURY, S.D. 1990. Shell membrane protein system in relation to lathyrogen toxicity and cooper deficiency. World Poultry Science Journal 46: 153-169.

DARDENNE, M.; BACH, J.M. 1993. Nutrient modulation of the immune response, Marcel Dekker Inc., USA : 501- 509.

DUDLEY-CASH, W.A. 1997. Organic form of zinc may provide additional benefits in poultry. *Feedstuffs*. 6 : 11-17.

EISEN, E.J.B.; BOHREN, B.; MCKEAN, H.E. 1962. The Haugh unit as a measure of egg albumen quality. *Poult. Sci.* 41: 1461-1468.

ETCHES, R.J. 1996. *Reproduction in poultry*. Ed. Cab International. Wallingford U.K. pp 167-207.

FAKLER, T.M.; JOHNSON, A.B. 1997. Trace mineral complex and poultry production. Internal report. Zinpro Corporation, Eden Prairie, Minnesota, USA. Pp 1-12.

FAKLER, T.; WARD, T.L.; KUHL, H.J. 2002a. Zinc amino acid complexes (AvailaZn®) improve layer production and egg quality. **In:** *International Poultry Scientific Forum*. Atlanta, GA, USA. 11p.

FAKLER, T.M. 2002b. effect of availa Zn and ZnSO₄ on laying hen performance and egg quality. *Annual meeting abstracts of poultry science*. 168. Vol. 81 Suppl. 1.

FERNANDEZ, M.S.; ARAYA, M.; ARIAS, J.L. 1997. Eggshell are shaped by a precise spatio-temporal of sequentially deposited macromolecules. *Matrix Biol.* 16: 13-20.

FERNANDEZ, M.S.; MOYA, A.; LOPEZ, L.; ARIAS, J.L. 2000. Secretion pattern, ultrastructural localization and function of extracellular matrix molecules involved in eggshell formation. *Matrix Biol.* (in press).

FIGUEROA, J. 2003. Efecto de la suplementación de zinc, manganeso y cobre orgánico sobre indicadores productivos y respuesta inmune de gallinas de postura comercial. Tesis Médico Veterinario. Universidad de Chile. Facultad de Cs. Veterinarias y Pecuarias. 75 p.

GONZÁLEZ, J. 2004. “Panorama actual de la Industria Avícola en Chile”. *Revista Gestión Veterinaria*, edición Marzo. Pág. 14-23.

GUO, Y.M.; YANG, R.; YUAN, J.; WARD, T.L.; FAKLER, T.M. 2002. Effect of Availa[®] Zn and ZnSO₄ on laying hen performance and egg quality. *Poultry Science* 81 Suppl.1 (40).

HEMPE, J.M.; LAUXEN, R.C.; SAVAGE, J.E. 1998. Rapid determination of egg weight and specific gravity using a computerized data collection system. *Poultry Science* 67: 902 - 907.

HODGES, R.D. 1974. *Histology of the fowl.* Academic Press London U.K.
In: Shell membrane protein system in relation to lathyrogen toxicity and copper deficiency. *World Poultry Science Journal.* 46: 153-169.

HOLDER, D.P.; HUNTLEY, D.M. 1978. Influence of added manganese, manganese, zinc and calcium level on egg shell quality. *Poultry*

Science.57:1629-1634.In:Effect of removing trace minerals from the diet of hens laying eggs with heavy or light shell weight.Poultry Science.73:295-301.

HUDSON, B.P.; DOZIER, W.A.; WILSON, J.L.; SANDER, J.E.;WARD, T.L. 2003. Effect of dietary zinc source on reproductive performance and immune status of broiler breeder hens. **In:** ZINPRO, journal abstracts, [en línea] <<http://www.zinpro.com/research/ZPA/ZPA0055.htm>> [Consulta: 15-05-2004].

HYNES, M.J.; KELLY, M.P. 1995. Metal ions, chelates and proteinates. Biotechnology in the feed industry. Nottingham Press, Nottingham. U.K. pp. 233–248.

JACKSON, M.E.; ZHONG, C.; FAKLER T.M. 1997. The bioefficacy of complexed mineral products on the performance of laying hens at three temperatures. Poultry Science. 76 (1) 18.

JOHNSON, B.; FAKLER, T.M. 1998. Trace minerals in swine and Poultry nutrition. **In:** Zinpro®, Technical Bulletin. [en línea] <<http://www.zinpro.com/research/pdf/tb/tm-swinepoultry.pdf>> [consulta:15-05-2004].

KHAJARERN, S.; RAPP, C.J.; WARD, T.L.; JOHNSON, A.B.; FAKLER, T. 2002a. Effect of zinc and manganese amino acid complexes (Availa® Z/M) on layer production and egg quality. International Poultry Scientific Forum. Atlanta, GA. USA. 10p.

KHAJARERN, J.; RATANASETHAKUL, C.; KHAJARERN, S.; WARD, T.L.; FAKLER, T.M.; JOHNSON, A.B. 2002b. **(ZP A0052).** Effect of zinc and manganese amino acid complexes (Availa® Z/M on broiler breeder production and immunity). Poultry Science Assn. 91st annual meeting, Aug. 11-14, 2002, Newark, DE. **In:** Zinpro®, Journal Abstracts, [en línea] <<http://www.zinpro.com/research/ZPA/ZPA0052.htm>> [consulta: 15-05-2004].

KIDD, M.T.; NICHOLAS, B.; ANTHONY, N.B.; JONSHON, Z.; LEE, S.R. 1992. Effect of zinc methionine supplementation on the performance of mature broiler breeders. Journal Applied Poultry Research. 1: 207 – 211.

KIDD, M.T.; QURESHI, M.A.; FERKET, P.R.; THOMAS, L.N. 1994. Dietary zinc-methionine enhances mononuclear-phagocytic function in young turkeys. Biological trace element research. 42: 217 – 229.

KIM, C.S.; HILL, C. H. 1996. The interrelationship of dietary copper and amine oxidase in the formation of elastin. **In:** Shell membrane protein system in relation to lathyrogen toxicity and copper deficiency. World Poultry Science Journal. 46: 153-165.

KLECKER, D.; ZEMAR, L.; SISKE, V.; GOMEZ BASURI, J. 1997. Influence of trace proteinate supplementation on egg shell quality. Poultry Science 76 (1) 131.

KOH, T.S.; PENG, R.K.; KLASING, K.C. 1996. Dietary copper level affects copper metabolism during lipopolysaccharide-induced immunological stress in chicks. *Poultry Science* 75: 867-872.

KOHLER, P.O.; GRIMLEY, P.M.; O'MALLEY, B.W. 1968. Protein synthesis: differential stimulation of cell-specific proteins in cells of the chick oviduct. *Science* 160: 86-87.

LIMA, F.R.; MABE,I.; ALBUQUERQUE,R. 2000. Zinc and manganese additional supplementation may benefit egg production and quality. *Poultry Science* 79.(1).46.

LUNDEEN, T. 2001. Mineral proteinates may have positive effects on shell quality. *Feedstuffs* (2) : 10.

MAAS, J. 1999. Trace mineral requirements of cattle and poultry. *California Animal Nutrition Conference*. pp 39-48.

MILES, R.D.; HENRY, P.R. 1999. Trace mineral bioavailability. *California Animal Nutrition Conference*. pp 1-16.

MIRANDA, S. 2004. Efectos de la suplementación de fuentes orgánicas versus inorgánicas de zinc, manganeso y cobre sobre la producción calidad del huevo y respuesta inmunológica en gallinas de postura comercial. Tesis Médico Veterinario. Universidad de Chile. Facultad de Cs. Veterinarias y Pecuarias. 171p.

MORENG, R.E.; BALNAVE, D.; ZHANG, D. 1992. Dietary zinc methionine effect on egg shell quality of hens drinking saline water. Poultry Science 71:1163-1167.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. NRC. 1994. Nutrient requirements of domestic animals. Nutrient requirements of poultry. 9th ed. National Academy of Sciences Press. Washington, D.C., USA. 155p.

NORTH, M. 1986. Manual de producción avícola, 2^a Edición. Editorial El Manual Moderno, S.A de C.V, México, D.F.

NYS, Y.; HINCKE, M.T.; ARIAS, J.L.; GARCIA-RUIZ, J.M.; SOLOMON, S.E. 1999. Avian eggshell mineralization. Poultry Avian Biol. Rev. 10: 143 - 166.

OKA, T.; SCHIMKE, R.T. 1969. Progesteron antagonism of estrogen induced cytodifferentiation in chick oviduct. Science 163: 83-85.

PADILLA, K. 2004. Efectos de una suplementación de zn, mn, cu como sales y como recursos orgánicos, sobre indicadores productivos, inmunológicos y de calidad del huevo de gallina de postura comercial. Etapas de crianza y postura inicial. Tesis Médico Veterinario. Universidad de Chile. Facultad de Cs. Veterinarias y Pecuarias. 90p.

PALOMO, I.; FERREIRA, A.; SEPULVEDA, C.; ROSEMBLANTT, M.; VERGARA, U. 2002. Fundamentos de inmunología básica y clínica. Ed. Universidad de Talca. Pp. 85-92.

QUINTEROS, V. 2002. Efectos de una suplementación de zinc, manganeso y cobre orgánicos sobre indicadores productivos y de calidad de huevo de gallinas de postura comercial. Tesis Médico Veterinario. Universidad de Chile. Facultad de Cs. Veterinarias y Pecuarias. 69 p.

ROITT, I.; BROSTOFF, J.; MALE, D. 1989. Immunology. Ed. Gower medical publishing Ltd. London U.K.

SAS INSTITUTE. 2000. User's guide: statistics. Version 5, edition. SAS. Institute Inc., Cary, N.C.

SAUVERS, B.; REVIERS, M. 1992. Reproducción de las aves. Ed Mundi Prensa, Madrid, 350 pp.

SMITH, M.O.; SHERMAN. I.L.; MILLER, L.C.;ROBBINS, K.R. 1994. Bioavailability of manganese from different sources in heat-distressed broilers. Poultry Science. SPSS Abstracts 128. Pp 163.

SOLOMON, S.E. 1983. The oviduct. **In:** Physiology an biochemistry of the domestic fowl. (J.Bell, B.M. Freeman, eds.), Academic Press London, Vol. 4 379-419.

SPEARS, J. 1996. Optimizing mineral levels and sources for farm animals. **In:** nutrient management of food animals to enhance and protect the environment, Ed. CRC Lewis Publishers, Boca Raton, Fl. Pp 259-275.

STEEL, R. G. D.; TORRIE, J.H. 1980. Principles and procedures of statistics: a biometral approach. Second Edition, México, Mc Graw-Hill, New York.

TIZARD, I. 1995. Inmunología veterinaria. Ed. interamericana Mc Graw-Hill. 4th Edición. pp. 92–525.

TULLET, S.G. 1987. Eggshell formation and quality in shell membrane protein system in relation to lathyrogen toxicity and copper deficiency. World Poultry Science Journal.46:153-169.

WALLACE, D. 2002. The physiology of molt induction and recovery. Annual Meeting Abstracts of Poultry Science. Vol 81, suppl 1, pag. 66.

WEBSTER, A.B. 2003. Physiology and behaviour of the hen during induced molt. Poultry Science 82:992-1002.

WYBURN, G.M.; JOHNSON, H.S.; DRAPER, M.H.; DAVISON, M.F. 1970. The fine structure of the infundibulum and magnum of the oviduct of *Gallus domesticus*. Q.J.I. Exp. Physiol. 55: 213-232.

ZINPRO. 2002. Availa Z/M zinc and manganese complexes aid broiler breeder production and inmunity. Technical Bulletin, [en línea] <<http://www.zinpro.com/research/pdf/tb/tb-p-7008.pdf>.> [consulta:20-03-2005].

**ANEXO
FOTOGRAFÍAS**

Foto 1: Unidad experimental para aves de postura.



Foto 2: Distribución de las aves en las jaulas.



Foto 3: Distribución de las dietas (tratamientos) en tarros para facilitar manejo.



Foto 4: Pesaje semanal de los huevos.



Foto 5: Pesaje mensual de las aves.

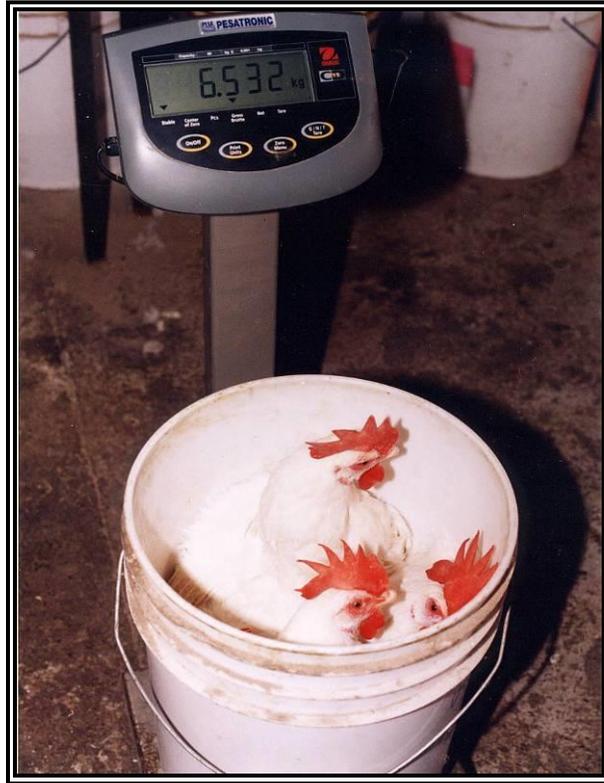


Foto 6: Tolva utilizada en la elaboración de las dietas.



Foto 7: Ejemplos de huevos considerados trizados, quebrados y sin cáscara.

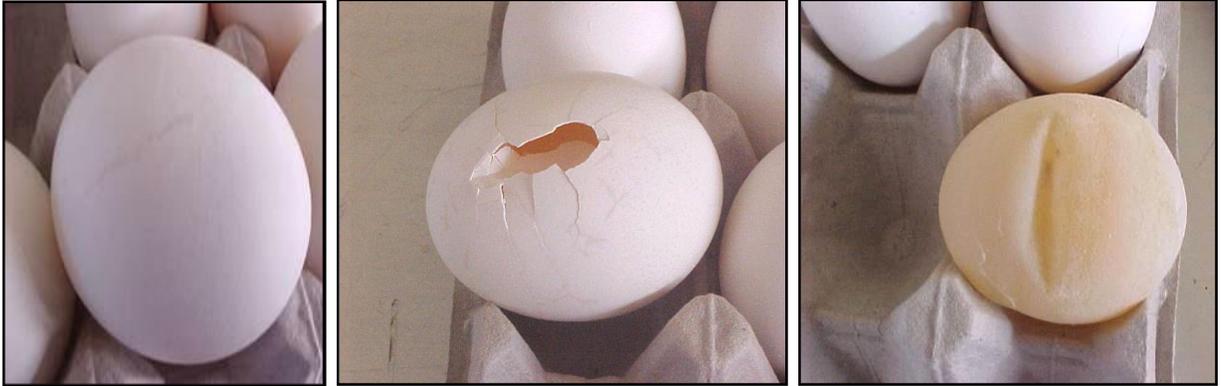


Foto 8: Ejemplos de huevos considerados sucios (con fecas y sangre respectivamente).



Foto 9: El equipo de trabajo: Ricardo Lecaros, José Luis Ramos y la regalona “Pinilla”.

