

01621  
23



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA  
DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

EFFECTO EN LOS NIVELES DE FOSFATASA ALCALINA Y  
CRECIMIENTO DE HUESO DE POLLITOS EN INICIACION  
ALIMENTADOS CON DIETAS BAJAS EN PROTEINA  
FORMULADAS CON AMINOACIDOS TOTALES Y PROTEINA  
IDEAL CON AMINOACIDOS DIGESTIBLES

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

P R E S E N T A :

GIOVANNA ORALIA ENCINAS ACOSTA

ASESORES: MVZ EDUARDO MORALES BARRERA  
MVZ ERNESTO AVILA GONZALEZ  
MVZ JULIO CESAR ALFARO CAMACHO



MEXICO, D. F.

2003

a



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



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

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

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

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

**TESIS  
FALLA  
DE  
ORIGEN**

I  
**DEDICATORIA**

**Para:**

**Lilia Oralia, mi madre,**

**Ever Gerardo, mi padre,**

**Daphne Giovanna, mi hija,**

**Julio César, mi amor.**

**Gracias por su Apoyo, Comprensión y Amor.**

b

## AGRADECIMIENTOS

**A mis padres Lilia Oralia y Ever Gerardo** lo primero y más importante es que los amo por que me dieron la vida y por la confianza que depositaron en mí. Desde que nací, con la mejor intención me criaron con sus consejos y libertad para elegir el camino adecuado, y hoy puedo decirles que no se equivocaron, son los mejores padres que Dios me pudo dar, que llegue a la meta que todos deseábamos gracias a ustedes.

**A mi hija Daphne Giovanna** gracias por tolerar mis ausencias, por tu sonrisa que me hizo salir adelante en los momentos mas difíciles donde sentía que iba a dejar de luchar, tu presencia me hacia revivir el ánimo y la fuerza para ser tu ejemplo y la madre que tu esperas ver cuando seas grande. Te amo muñequita preciosa.

**A mi Amor Julio César** gracias por llegar a iluminar mi vida y darme alientos para seguir adelante en el camino, sin ti hubiera sido difícil, triste y solitario el andar. Tus besos, abrazos y palabras apagaron mi soledad y fortalecieron mi alma. Para poder llegar a realizar este momento tú fuiste el personaje principal ya que gracias a ti empecé la tesis y la termine, y me apoyaste en todo momento.

C

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

**Christopher Encinas** hermano mío siempre haz sido mi compañero en las buenas y en las malas, en las tareas y en las consultas que surgieron en el camino, me apoyas y me escuchas siempre que lo necesito, como todos las personas hemos tenido nuestras dificultades pero siempre nos amaremos, respetaremos y seremos hermanos unidos como nuestros padres nos lo enseñaron.

**Isaid Encinas** hermano aunque casi no pasamos tiempo juntos, los pocos momentos fueron maravillosos a tu lado, no olvides que te amo y siempre cuentas conmigo, gracias por estar cerca de mí.

**Familia Alarcón Vela** primero quiero darte gracias a ti Mariano por brindarme tu amistad, tu casa y a tu hermosa familia que por acuerdo mutuo pase a formar parte de ella. Gracias Tía Vicky y Tío José Luis por brindarme su casa, por consentirme y darme ese calor de hogar, por que nunca me sentí sola en su compañía, por preocuparse por mí siempre. Gracias Tía Cristy y Pepe por su hermosa amistad y confianza.

**Diana Pastrana** querida Nani te agradezco todo tu tiempo, paciencia y amor que nos tuviste a Daphne y a mí (que es invaluable, por que nadie lo hubiera hecho mejor que tu), por esas desmañadas y trasnochadas que pasaste por apoyarme para que llegara a terminar mi carrera y poder cumplir mis metas y los deseos de mis padres al igual que las personas que me quieren y apoyaron siempre.

d

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**

**UNAM-FMVZ** por haberme dado la oportunidad de adquirir mi formación universitaria y haber sido mi casa durante 5 años, por darme tantas satisfacciones, experiencias y amistades, también por lo que obtendré en el futuro gracias a los conocimientos adquiridos en todo ese tiempo.

**Abue Kika Suárez** gracias por ser tu nieta consentida y apoyarme siempre, por cuidar a Daphne, brindándome tu casa, económicamente y aconsejándome que no me de por vencida nunca.

**Familia Acosta Starks** gracias por todo su cariño, comprensión ayuda incondicional (sobre todo cuando de tareas se trataba). Los quiero mucho Tíos Ricardo y Anne, primos Dimi, Alexito y Eric.

**Familia Acosta Domínguez** gracias por todo su cariño. Los quiero mucho Tíos Isaías y Soco, primos Tona, Cintli y Huetsin.

**Teresa Ramírez Valentín** querida amiga tú eres una de las personas por las cuales le doy gracias a la UNAM-FMVZ de tener una amistad como la tuya, gracias por estar conmigo en las buenas y en las malas, en las aventuras, travesuras, fiestas y brindarme tu casa y tu familia. Tu apoyo incondicional nunca lo olvidare y siempre seguiré cultivando nuestra amistad.

**Bibiana Ledezma Reyes** querida amiga te agradezco los momentos tan padres que tuvimos juntas, por preocuparte por mí, por tenerme confianza y brindarme tu casa y tu familia; espero que nuestra amistad siga por siempre.

**Delfino Barbosa, Jesús Reyes, Martha Gutiérrez, Pablo Moran, Arisbet, José A., Benjamín, Omar Zaragoza, César (Chicharo), Humberto y Karina, Nicolás (Nico), Francisco Quezada, Reynel Galán, Héctor Herrera, Jorge Mexicano, Sra. Elizabeth (DPA)** gracias por brindarme su amistad.

**Tomás Bistrain B.** gracias Tomacito por tu hermosa amistad incondicional, por apoyarme y estar presente en los momentos de felicidad y ser mi paño de lágrimas en los momentos tristes.

**Carlos Vistrain y su Mamá** gracias por brindarme su hermosa amistad y apoyarme incondicionalmente.

**Profesores de la FMVZ** a ustedes les debo todos los conocimientos que adquirí en estos 5 años, teóricas y prácticas fueron horas muy placenteras. También les agradezco la amistad que me brindó **Jesús Romero, Química Ma. Antonieta García, Marcelino Rosas, Francisco Monroy, Joaquín Aguilar, David Paez, Constantino, Francisco Basurto, Carlos Esquivel, Víctor Petrone, Humberto Troncoso.**

**Asesores de tesis** les agradezco la oportunidad que me dieron para realizar mi tesis en este tema de investigación y la enorme paciencia que tuvieron conmigo ya que fui lenta para la realización de la tesis, su ayuda fue invaluable.

**Sinodales de Tesis** gracias por su paciencia y ayuda para llevar a cabo este momento. **María de la Luz Charles Noriega, Antonio Díaz Cruz, Juan Manuel Cervantes Sánchez, Ernesto Ávila González, Gabriela Gómez Verduzco.**

**III**  
**CONTENIDO**

	<u>Página</u>
1. RESUMEN.....	1
2. INTRODUCCION.....	3
3. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	5
3.1 Formación embrionaria del hueso.....	5
3.2 Estructura del hueso .....	6
3.3 Las sales del hueso.....	6
3.4 Mecanismo de calcificación del hueso.....	7
3.5 Factores que afectan el crecimiento del hueso.....	8
3.5.1 Factores nutricionales .....	8
3.5.2 Factores hormonales.....	9
3.5.3 Citocinas como factores de crecimiento.....	10
3.6 Anormalidades en el crecimiento del hueso .....	10
3.7 Manganeso.....	12
3.8 Funciones bioquímicas del manganeso.....	13
3.9 Fosfatasa Alcalina Sérica.....	14
3.10 Quelatos.....	14
3.11 Proteína ideal.....	15
3.12 Disminución de la proteína en dietas para pollo.....	17
3.13 Impacto del nivel de proteína sobre el requerimiento de aminoácidos.....	18
3.14 Impacto de la suplementación de aminoácidos sobre el equilibrio entre aniones y cationes .....	19
3.15 Manganeso y reducción de proteína .....	22
4 HIPÓTESIS .....	24
5 OBJETIVOS .....	25

6	<b>MATERIAL Y MÉTODOS</b> .....	26
7	<b>RESULTADOS</b> .....	28
7.1	Parámetros productivos.....	28
7.2	Fosfatasa alcalina.....	30
7.3	Placas de crecimiento del hueso.....	32
8	<b>DISCUSIÓN</b> .....	33
9	<b>CONCLUSIONES</b> .....	41
10	<b>LITERATURA CITADA</b> .....	42
11	<b>ABREVIATURAS EMPLEADAS</b> .....	48
12	<b>ANEXOS</b> .....	49
	<b>Cuadro 1.</b> Dietas para pollo de engorda de 0 a 21 días de edad .....	49
	<b>Gráficas.</b> Niveles de inclusión de aminoácidos sintéticos en las dietas experimentales .....	50
	<b>Cuadro 2.</b> Resultados promedio obtenidos de los parámetros productivos evaluados en pollos de 0 a 21 días de edad .....	51
	<b>Cuadro 3.</b> Resultados promedio obtenidos de cada muestreo de fosfatasa alcalina en sangre en pollos de 0 a 21 días de edad .....	52
	<b>Cuadro 4.</b> Resultados promedio totales de los muestreos de fosfatasa alcalina en sangre en pollos de 0 a 21 días de edad .....	53
	<b>Gráfica 1.</b> Niveles promedio totales (hasta los 21 días) de fosfatasa alcalina sérica en pollos con dietas formuladas con aminoácidos totales y digestibles, bajas en proteína .....	54
	<b>Cuadro 5.</b> Resultados totales promedio de las mediciones de las placas de crecimiento del hueso en pollos de 0 a 21 días de edad .....	55
	<b>Técnica 1.</b> Método de King-Armstrong para determinación de fosfatasa alcalina sérica.....	56

**ENCINAS ACOSTA GIOVANNA ORALIA.** Efecto en los niveles de fosfatasa alcalina y crecimiento de hueso de pollitos en iniciación alimentados con dietas bajas en proteína formuladas con aminoácidos totales y proteína ideal con aminoácidos digestibles (bajo la asesoría de: Eduardo Morales Barrera, Ernesto Ávila González y Julio César Alfaro Camacho).

## 1. RESUMEN

Se realizó el presente estudio con el objetivo de evaluar los niveles de la enzima fosfatasa alcalina (FA) y el crecimiento de la tibia de pollitos en iniciación, alimentados con dietas formuladas con bajos niveles de inclusión de proteína cruda (PC) considerando los requerimientos de aminoácidos (AA's) digestibles (AAD) y totales (AAT). Se utilizaron 240 pollitos de engorda machos de la estirpe Hubbard x Hubbard de 1 día de edad, los cuales fueron mantenidos hasta el día 21. Fueron alojados en baterías eléctricas y distribuidos completamente al azar en un arreglo factorial 3 x 2; con 6 tratamientos, con cuatro réplicas de 10 aves cada una. Uno de los factores fue el nivel de PC de la dieta utilizándose 12, 14 y 16%. El otro fue la formulación de las dietas con los requerimientos de AAT, y AAD bajo el concepto de proteína ideal (PI). Se estudió el comportamiento productivo de los pollos mediante la evaluación de algunos parámetros productivos; fueron tomadas muestras de sangre para evaluar en el suero niveles de FA; finalmente se realizaron mediciones de las placas de crecimiento óseo de la tibia denominadas *proliferativa proximal* (PP), *medial proximal* (MP), *total proximal* (TP), *proliferativa distal* (PD), *medial distal* (MD) y *total distal* (TD), así como el *tamaño total de la tibia*, a los 3, 7, 14, 17 y 21 días de edad. Respecto a los resultados obtenidos en la evaluación de la ganancia de peso, no se observaron diferencias estadísticamente significativas (DES) ( $P > 0.05$ ) entre AAT (387 g) y AAD (367 g); al disminuir el porcentaje de PC de 16 a 14 y posteriormente a 12%, las aves perdieron peso ( $P < 0.05$ ) (408<sup>A</sup>, 385<sup>A</sup> y 337<sup>B</sup> g, respectivamente) y consumieron menos alimento (496<sup>A</sup>, 481<sup>A</sup> y 408<sup>B</sup> g, respectivamente); no hubo DES ( $P > 0.05$ ) para el factor AA (453 y 470 g para AAT y AAD, respectivamente). Referente a la conversión alimenticia no existieron DES ( $P > 0.05$ ) para el factor PC (1.23, 1.25 y 1.23, para 16, 14 y 12%, respectivamente) ni para el factor AA (1.19 y 1.29, para AAT y AAD, respectivamente). En los valores promedio obtenidos después de las cinco evaluaciones de FA, se encontraron DES ( $P < 0.05$ ) entre tratamientos, y un mayor nivel ( $P < 0.10$ ) de FA cuando se consideraron AAD en comparación con

AAT (18,604<sup>A</sup> y 21,806<sup>B</sup>, respectivamente). No hubo efecto ( $P>0.05$ ) en los valores promedio de las placas de crecimiento PP, TP, MD, TD, y tamaño de la tibia. La placa MP presentó un mayor grosor ( $P<0.05$ ) con AAD que con AAT (0.97<sup>B</sup> y 0.58<sup>A</sup> mm, respectivamente), mientras que el de la placa PD fue menor ( $P<0.05$ ) al nivel de 12% PC (1.0<sup>B</sup>, 1.06<sup>AB</sup> y 1.12<sup>A</sup> mm, para 12, 14 y 16%, respectivamente). Los resultados obtenidos indican que la formulación de dietas con bajos niveles de inclusión de PC, afecta la productividad del pollo; así como el desarrollo de la tibia debido a un menor crecimiento de las placas MD y PD, lo cual podría tener relación con la disminución del nivel de FA en suero.

**Palabras clave:** Fosfatasa alcalina, hueso, pollos, proteína ideal, aminoácidos.

## 2. INTRODUCCION

Gran parte del costo de producción del pollo de engorda está representado por el suministro de proteína y aminoácidos (AA's) esenciales. Anteriormente las dietas para pollo de engorda en crecimiento se formulaban basándose en el contenido de proteína cruda (PC) de los alimentos con un requerimiento de proteína aproximado del ave (1,2). Sin embargo, debido a la factibilidad actual de utilizar AA's sintéticos y a que los requerimientos individuales para cada aminoácido (AA) han sido determinados con mayor exactitud, la formulación de raciones se puede realizar basándose en las necesidades individuales de los AA's en cada etapa productiva del pollo (3). Con esto ha surgido el concepto de proteína ideal (PI) en la alimentación aviar. Este concepto requiere en la formulación de la dieta el empleo de AA's digestibles (AAD) y se puede reemplazar parte de la proteína con AA's sintéticos (4,5). Actualmente se encuentran disponibles DL-metionina, L-lisina, L-treonina y L-triptófano, los cuales pueden incluirse en la dieta dependiendo del tipo de ingredientes utilizados. Existe un gran potencial en la reducción de costos formulando dietas bajo el concepto de PI (6,7). Los requerimientos de AAD del ave pueden ser cubiertos con AA's sintéticos, con lo que es posible disminuir el nivel de PC de la dieta y emplear ingredientes alternativos con valores bajos de PC para satisfacer los requerimientos de AA's (8).

No obstante, al reducir la PC y aumentar los niveles de AA's sintéticos es necesario tener en consideración el balance electrolítico, pues el metabolismo de los AA's puede ser alterado por el equilibrio ácido-básico, así como la ionización de metabolitos. Con esto, el rendimiento productivo del ave disminuye (9). Por otro lado se ha observado un efecto adverso en la absorción de ciertos minerales traza debido al uso de AA's sintéticos en niveles elevados. Morales y Leeson (10)

observaron problemas en piernas de aves sugestivos de perosis cuando utilizaron 12 y 14% PC en dietas adicionadas con AA's sintéticos. Asimismo, informaron que los niveles de manganeso (Mn) eliminados en las excretas disminuyeron conforme reducían la PC de la dieta y aumentaban los niveles de AA's sintéticos (10). Debido a ello, resulta necesario llevar a cabo investigaciones referentes a la fisiología del crecimiento del pollo utilizando dietas bajas en proteína para evaluar los requerimientos de nutrientes.

El Mn, además de ser activador de varias enzimas, entre ellas fosfatasa alcalina (FA), interviene en la calcificación de la matriz ósea durante el desarrollo del hueso del ave (11). Debido a que el Mn es un mineral con susceptibilidad a formar quelatos con otros ingredientes de la dieta, principalmente AA's cuando se encuentran en exceso, y resulta esencial en la activación de FA, el objetivo del presente estudio fue determinar si dietas formuladas con bajos porcentajes de PC y suplementadas con AA's sintéticos, afectan el nivel de la enzima fosfatasa alcalina sérica en pollitos de uno a 21 días de edad. Así como determinar si este tipo de dietas afecta el crecimiento de la tibia y el rendimiento productivo.

### 3. REVISION BIBLIOGRAFICA

#### 3.1 Formación embrionaria del hueso

Durante el desarrollo embrionario, el tejido óseo se origina a partir de las células mesenquimatosas. Histológicamente existen dos tipos de hueso: 1) el inmaduro o primario, y 2) el maduro, secundario o lamelar. El mecanismo de desarrollo de ambos es diferente (12).

La vascularización del tejido óseo coincide con la formación del pericondrio y con la aparición de los osteoblastos, conformándose una capa delgada que nace alrededor de la parte externa de la sección media del hueso. El grosor de esta capa se incrementa notablemente por la acumulación de osteoclastos, mientras que en el centro, los condrocitos se hipertrofian y secretan FA. Así mismo, la matriz se comienza a calcificar y los osteoclastos penetran esta primera capa de hueso y posteriormente erosionan el cartilago interno calcificado. Los espacios que se forman son llenados por células que se diferencian en osteoblastos mientras otras células dan origen al tejido hematopoyético. La resorción osteoclástica continúa hasta el final de la formación ósea, con los osteoblastos depositando hueso alrededor de los remanentes del cartilago calcificado para formar una red trabecular irregular. La formación del periostio del hueso incrementa las capas de formación del hueso y eventualmente muchas de las trabeculas internas son removidas para establecer una cavidad de tejido hematopoyético (13).

### **3.2 Estructura del hueso**

El hueso está constituido por una matriz orgánica resistente, la cual se encuentra considerablemente reforzada por depósitos de sales de calcio. El 30% del hueso compacto está conformado por matriz y el 70% restante por sales minerales. A su vez, la matriz orgánica del hueso está compuesta por fibras de colágena en un 95%; el 5% restante es sustancia fundamental. Las fibras de colágena se extienden por todas direcciones en el hueso y su densidad es mayor a lo largo de las líneas de tensión. Estas fibras dan al hueso su gran fuerza tensil. La sustancia fundamental está conformada por líquido extracelular, mucoprotefna, sulfato de condroitina y ácido hialurónico, y constituye el medio en el cual se depositan las sales de calcio (14,15).

### **3.3 Las sales del hueso**

Las sales cristalinas que se depositan en la matriz orgánica del hueso están compuestas básicamente por calcio y fósforo. La mayoría en forma de fosfato de calcio, carbonato de calcio, y fosfato de magnesio; algunas otras, como los citratos, se encuentran en pequeñas proporciones. Otra sal cristalina importante es la hidroxapatita, aunque también existen sales de magnesio, sodio y potasio. Las fibras colágenas del hueso y tendones tienen gran fuerza tensil. Las sales de calcio tienen propiedades físicas similares al mármol y una gran fuerza de compresión. Estas propiedades combinadas, más la estrecha unión entre fibras y cristales dan como resultado fuerzas de tensión y compresión considerables (14,15).

### 3.4 Mecanismo de calcificación del hueso

La etapa inicial en la síntesis del hueso es la secreción de colágena y sustancia fundamental por parte de los osteoblastos. La colágena se polimeriza rápidamente para formar fibras. El tejido resultante se denomina osteoide, material similar al cartilago. Sin embargo, a diferencia de éste, el osteoide permite la precipitación en su interior de sales de calcio. Una vez formado el osteoide, algunos osteoblastos quedan aprisionados en él, dando lugar a los denominados osteocitos. Estos desempeñan un papel importante en el proceso posterior de calcificación. Después de la formación del osteoide, las sales de calcio comienzan a precipitarse en la superficie de las fibras colágenas. El precipitado aparece con intervalos periódicos a lo largo de cada fibra, constituyendo pequeños focos que crecen gradualmente durante días y semanas hasta formar cristales de hidroxiapatita (14).

Las sales de calcio que inicialmente se depositan no son cristales de hidroxiapatita, sino compuestos amorfos (no cristalinos) de  $\text{CaPO}_4$  y  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ . Posteriormente por sustitución y adición de átomos, estas sales terminan formando cristales de hidroxiapatita. El mecanismo por medio del cual las sales de calcio se depositan en el osteoide, no está del todo claro. Una teoría sugiere que los osteocitos aprisionados en el osteoide concentran grandes cantidades de calcio y fosfato en sus mitocondrias. Incluso precipitan en ellas compuestos de fosfato de calcio. Estas sales preformadas se unen a las fibras colágenas para construir los focos iniciales de cristalización, y es posible que nuevas vesículas proporcionen los iones necesarios de calcio y fosfato para que prosiga el crecimiento de los cristales (12). Otra teoría sostiene que al tiempo de su formación, las fibras de colágena se encuentran ya presentes para causar la precipitación de sales y calcio (13). Una variante de esta teoría sugiere que los osteoblastos secretan una sustancia en el osteoide para neutralizar un inhibidor (quizá pirofosfato) que normalmente impide la cristalización de la hidroxiapatita. Una vez que se ha

producido esta neutralización, es probable que la afinidad natural de las fibras de colágeno por las sales de calcio origine la precipitación. La formación de los primeros cristales en la fibra de colágena se denomina nucleación (16).

El desarrollo de cristales de hidroxiapatita en los huesos en proceso de formación, alcanza el 75% de su total en pocos días. Pero suelen ser necesarios varios meses para que el hueso logre una calcificación completa (14).

### **3.5 Factores que afectan el crecimiento del hueso**

#### **3.5.1 Factores nutricionales**

La suplementación adecuada de nutrientes en la dieta es de suma importancia para el crecimiento del tejido óseo. Muchas deficiencias nutricionales afectan el crecimiento endocondral de las aves, principalmente de aquellas que presentan un rápido desarrollo muscular. Por ejemplo, la deficiencia de proteína en la dieta causa alteraciones en el desarrollo óseo de pavos de rápido crecimiento, pero no en los de lento desarrollo (17).

La deficiencia de Mn se relaciona con la aparición de problemas de perosis (18). Jukes (19) demostró que la colina es indispensable para la obtención de una ganancia de peso adecuada y para prevenir la aparición de perosis. El requerimiento de colina depende a su vez de los niveles de ácido fólico y cianocobalamina (B<sub>12</sub>), ya que estas vitaminas participan en su síntesis y metabolismo (20).

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

Actualmente se conoce que las deficiencias de colina, ácido nicotínico, piridoxina y Mn pueden conducir a la presentación de perosis (15). La deficiencia de riboflavina tiene efectos principalmente a nivel del sistema nervioso. En estos casos la deficiencia causa alteraciones en los nervios ciático y braquial, ocasionando signología similar a la que se presenta en casos de perosis (21,22).

La vitamina D<sub>3</sub> interviene activamente en la mineralización del hueso. Su principal papel consiste en la diferenciación del osteoblasto (15).

### **3.5.2 Factores hormonales**

Un gran número de hormonas se encarga de controlar el crecimiento óseo. Los efectos hormonales en el desarrollo de los huesos en mamíferos, indican que las hormonas anabólicas estimulan la producción de matriz ósea, y la hormona del crecimiento estimula la producción de condroblastos y osteoblastos (23).

La matriz generada por efecto de las hormonas del crecimiento difiere posteriormente de la producida por hormonas anabólicas esteroidales. Los glucocorticoides catabólicos esteroidales sintetizados por las glándulas adrenales, inhiben la proliferación de osteoblastos disminuyendo de esta forma la producción de una matriz más estable, la cual se calcifica con dificultad. La hormona tiroidea es importante en el proceso de glucólisis, esencial para el crecimiento normal del hueso. La hormona paratiroidea, que estimula la formación de osteoclastos, es necesaria para la remodelación normal del hueso (23).

### **3.5.3 Citocinas como factores de crecimiento**

Dentro de los factores que controlan la proliferación, diferenciación u otra vía de regulación en la actividad de la línea de células osteoblásticas para la formación del hueso, se encuentra una serie de citocinas denominadas factores de crecimiento (IGFs) tales como los factores de crecimiento con secuencia similar a la insulina (TGF- $\alpha$  y TGF- $\beta$ ). La FA es un marcador de la maduración fenotípica de los osteoblastos y su actividad es regulada por IGF-I y TGF- $\beta$ ; estos factores también son reguladores muy importantes de las células precursoras de los osteoblastos. En los sistemas celulares donde la TGF- $\beta$  inhibe la proliferación celular, la actividad de la FA se incrementa. Por el contrario, cuando la proliferación celular es estimulada, su actividad disminuye (14).

### **3.6 Anormalidades en el crecimiento del hueso**

Algunas anomalías pueden presentarse durante el desarrollo del tejido óseo de las aves. Problemas de mineralización del hueso, tales como raquitismo y osteomalacia, son originados por deficiencias de vitamina D o fósforo. En ambos casos se presenta una calcificación deficiente del hueso, caracterizada por la disminución en la mineralización del osteoide. Deficiencias de vitamina A causan una pobre remodelación del hueso al inhibirse la formación de osteoclastos, ocasionando en las aves afectadas ataxia por la compresión del sistema nervioso central. Las deficiencias de Mn, colina, biotina, ácido nicotínico, ácido fólico, zinc o piridoxina, pueden ser causa de condrodistrofia; en las aves afectadas, el tendón del músculo gastrocnemio suele salirse de su lugar (11).

El Mn se encuentra presente en todos los tejidos del organismo, pero su concentración es mayor en los órganos reproductores. La absorción y excreción de este mineral depende de la formación natural de quelatos. El promedio de excreción de Mn depende del nivel que contenga la dieta; cambios ligeros de pH, así como la presencia de otros iones metálicos no lo afectan. El problema metabólico más grave por deficiencias de Mn es la perosis y puede presentarse en pollos y pavos de pocos días de edad. Se caracteriza por crecimiento anormal del hueso y malformación de la articulación tibio metatarsiana, en la unión de la porción distal de la tibia y proximal del metatarso; al movimiento de la pierna se desvía el tendón del músculo gastrocnemio. La enfermedad puede agravarse por el consumo de altos niveles de calcio y fósforo, los cuales afectan la absorción de Mn. En términos generales, la deficiencia de Mn afecta el crecimiento al disminuir la mineralización del hueso (15).

En 1934, Serfontein y Payne (24) reportaron que las razas pesadas y semipesadas presentan mayor predisposición a la presentación de perosis. En sus estudios observaron que el 14% de los casos de perosis se presentaba en gallinas Rhode Island, mientras que en las aves Leghorn únicamente se producía el 0.7%. Así mismo, determinaron que los reproductores Rhode Island son capaces de transferir una incidencia de 50% a las siguientes generaciones (24).

Somes en 1969, demostró la existencia de un autosoma mutante recesivo en pollos causante de perosis (25). Thomas y Lowther en 1976 reportaron una alta incidencia inusual de perosis en pollos en Australia, concluyendo que la causa del problema no fue por deficiencia de Mn. En aquella ocasión observaron en gran parte de los casos una proliferación anormal de los condrocitos en la placa epifisiaria de la tibia (26).

Durante procesos osteopénicos, algunos minerales como fósforo, calcio y magnesio en el plasma se mantienen dentro de niveles normales, pero la FA se incrementa en las aves afectadas (15).

### 3.7 Manganeso

El Mn se absorbe difícilmente a través de la pared intestinal, requiriendo para ello la presencia de quelatos naturales, especialmente aquellos formados con sales biliares, siendo excretado a través de la bilis y absorbido nuevamente a través del intestino. Niveles elevados de calcio, fósforo y hierro disminuyen su absorción. Los tejidos no almacenan cantidades considerables de Mn, con excepción de los órganos del aparato reproductor y las plumas (27).

El Mn es necesario en las aves para estimular el crecimiento, la reproducción y prevenir la perosis. Como se ha comentado anteriormente, la perosis consiste en la deformación anatómica de huesos de las piernas en aves de corral, como el pollo y pavo. Generalmente se produce engrosamiento y deformación con torsión de la porción distal de la tibia y la proximal del metatarso, con la posterior salida del tendón del músculo gastrocnemio de sus condílos de inserción (27).

El Mn también participa en la síntesis y resistencia del cascarón. Su deficiencia en la etapa embrionaria ocasiona disminución de los nacimientos y condrodistrofia con mortalidad elevada en los últimos días de incubación (27).

### 3.8 Funciones bioquímicas del manganeso

El Mn es esencial para el desarrollo de la matriz orgánica del hueso, la cual está constituida por mucopolisacáridos de cadena larga. El cartilago epifisial contiene sulfato de condroitina y puede desarrollarse anormalmente si las aves son alimentadas con dietas deficientes en Mn. Cuando esto ocurre, se forma una laguna que no osifica en la matriz de la lámina epifisial del hueso. El sulfato de condroitina es un polímero  $\beta$ -D-glucurónico unido a un 1, 3-N-acetil-D-galactosamina en los enlaces  $\beta$ -1,4. El sulfato es esterificado durante el proceso de elaboración de galactosamina. El mucopolisacárido se une con su xilosa a proteínas específicas a través de los grupos hidroxilo de serina. En los pasos enzimáticos para la síntesis de sulfato de condroitina, el Mn es requerido por la galactotransferasa y por una polimerasa (15).

El Mn activa varias enzimas como la arginasa, cisteína desulfhidrasa, tiaminasa, carnosinasa, desoxiribonucleasa, enolasa, prolinasa intestinal y glicil-L-leucina dipeptidasa. Es necesario para la fosforilación oxidativa de la mitocondria, síntesis de ácidos grasos y la incorporación de acetato a colesterol (15).

Está involucrado en el metabolismo de AA's. Además de activar enzimas hidrolasas como la arginasa, forma quelatos con AA's donde el fosfato de piridoxal puede participar. En estos complejos, el fosfato de piridoxal y el Mn pueden ser transportados más rápidamente a los tejidos. La actividad de la FA se encuentra marcadamente disminuida en pollos con dietas deficientes en Mn (15).

### 3.9 Fosfatasa Alcalina Sérica

La elevada actividad de FA en suero es de interés en el diagnóstico de algunas enfermedades, como por ejemplo problemas hepáticos y óseos como osteomalacia, osteoporosis y cáncer osteogénico (asociadas con un incremento en la actividad osteoblástica). La actividad de FA en suero se puede elevar debido a fracturas óseas, crecimiento, ictericia obstructiva, oclusión del conducto hepático biliar y cirrosis (28).

La metodología descrita por Bowers y McComb mide la actividad de FA hidrolizando el sustrato de p-nitrofenil fosfato (p-NPP) para formar el cromógeno amarillo p-nitrofenol, cuya cantidad se cuantifica por medio de colorimetría, llevándose a cabo una reacción cinética. Los resultados se reportan en unidades por litro (U/L) (28).

### 3.10 Quelatos

Los quelatos están constituidos por minerales que se unen a elementos orgánicos como proteínas y AA's, entre otros, formando un compuesto el cual es liberado en su forma iónica en la pared intestinal o es rápidamente absorbido como quelato intacto. Esta unión aumenta la absorción de elementos minerales como manganeso, calcio y fósforo; evitando su conversión a compuestos químicos insolubles ó que se adsorban en formas coloides insolubles que puedan evitar su absorción (15).

No hay una restricción en la formación de enlaces covalentes de alta energía, los cuales normalmente unen átomos para formar moléculas convencionales. Un quelato metálico normalmente

está formado por un anillo que se origina de la atracción de dos cargas positivas de ciertos cationes, con dos o más sitios de alta electronegatividad. Los quelatos tienen alta estabilidad, sin embargo un ión metálico como quelato puede resultar indisponible para plantas y animales o, por otro lado, ser altamente absorbible y prevenir que el ión metálico forme complejos metálicos insolubles (15).

### 3.11 Proteína ideal

En 1946, Mitchell y Block discutieron el concepto de un balance adecuado de AA's en la alimentación de ratas utilizadas como animales de laboratorio (29). Posteriormente otros investigadores realizaron estudios tratando de obtener el balance adecuado de AA's a partir de la relación de AA's de la canal de pollo (29). Scott y Mitchell en 1946 publicaron una versión de proteína ideal (PI) basada en el perfil del huevo, la cual se consideró en su momento inadecuada debido a que contenía exceso de AA's (30). Posteriormente, Mitchell en 1964 obtuvo los requerimientos de AA's para crecimiento y mantenimiento de pollos de engorda, los cuales fueron modificados por Dean y Scott en 1965. Estos valores representaban niveles de AA's y nitrógeno cercanos a los requerimientos mínimos necesarios en estas dos etapas, publicados posteriormente por Baker *et al* en 1979 (31).

Investigaciones realizadas en la Universidad de Illinois, y la aparición de AA's sintéticos (lisina, metionina, treonina, triptófano, arginina e histidina) en el mercado para elaborar alimentos balanceados en décadas posteriores, fueron perfeccionando el concepto de PI planteado inicialmente a mediados del siglo XX. En la actualidad no se ha generado la "proteína ideal" que

sugiere este concepto, lo cual implica el balanceo de dietas con base a los requerimientos de AA's del ave y no de proteína.

Teóricamente el balance exacto de AA's que el animal necesita es la definición de PI. Esto implica que no deben haber excesos ni deficiencias, y una mínima proporción de AA's debe ser usada para generar energía; por lo que la excreción de nitrógeno se minimiza y todos los AA's no indispensables deben ser transformados a AA's indispensables. El concepto también determina que todos los AA's deben estar en relación con la lisina, ya que es el segundo AA limitante en las aves después de la metionina. A diferencia de los demás AA's, el análisis de lisina en los ingredientes es directo. Éste AA tiene una sola función en el cuerpo: la formación de proteína. Existe bastante información de los requerimientos de lisina en diferentes tipos de dietas para aves bajo diferentes condiciones medio ambientales y otras circunstancias (29).

La PI debe formularse con los valores de AAD de los ingredientes en el software. Sin embargo, aún no se dispone de los valores exactos con lo cual se disminuiría la PC y se adicionaría la cantidad adecuada de AA's cristalinos. Con ello, el potencial genético de crecimiento que tienen las actuales estirpes de aves sería expresado en gran medida (29).

En la formulación de dietas para aves se hace necesaria la utilización de fuentes alternas a los ingredientes principales tradicionales, ya que pueden ser la base de la formulación de una determinada región por la disponibilidad del producto y su costo. En México es común formular dietas con sorgo y pasta de soya, los cuales son dos de los ingredientes más económicos y disponibles. Sin embargo existen otros ingredientes que por el precio de oportunidad en un momento dado, podrían ser incluidos en las dietas para reducir costos (32).

A pesar que desde el punto de vista de protección ambiental es correcto reducir el nivel de excreción de nitrógeno y es, además, económicamente prudente reducir los costos involucrados en la formulación con niveles excesivos de proteína en la dieta, es esencial que ésta sea formulada de tal manera que se consiga un desempeño óptimo del pollo y un desarrollo de la canal adecuado. Debido a que el costo de los AA's cristalinos ha disminuido con pocos cambios en los precios de la proteína, es una realidad la suplementación de las dietas con numerosos AA's sintéticos (33).

### **3.12 Disminución de la proteína en dietas para pollo**

Con la disminución del porcentaje de inclusión de PC en dietas para pollo, es posible mejorar la utilización del nitrógeno proteico. Además, se reduce la excreción de éste, mejora la tolerancia de las aves a temperaturas ambientales elevadas y disminuye la concentración de amoniaco en la cama. Con el uso de dietas con niveles bajos de PC deben cubrirse por consecuencia los requerimientos de AA's para mantenimiento y formación de tejidos para obtener un óptimo desarrollo (7).

El exceso de lisina en las aves antagoniza con la arginina y el exceso de leucina antagoniza con isoleucina y valina, resultando en una disminución del crecimiento. Un balance incorrecto de AA's puede disminuir el consumo de alimento sin alterar la utilización de nutrientes (34).

Yamashita y Ashida en 1971 estudiaron el efecto de niveles excesivos de lisina y treonina en el metabolismo de ratas de laboratorio debido a que 1) una deficiencia de estos dos AA's incrementa la deposición de lípidos en el hígado, y 2) estos AA's no son transaminados. Encontraron que el crecimiento no se redujo significativamente por niveles altos de lisina o treonina. Las ratas poseen un mecanismo homeostático que les permite sostener los niveles de lisina constantes, mientras los

niveles corporales de treonina fluctúan dependiendo de la cantidad presente en la dieta. Dicho mecanismo homeostático regula el requerimiento variable de treonina. Cuando los niveles de lisina se encuentran por abajo de los requerimientos en el ave, toda la lisina del alimento absorbida que no es usada para mantenimiento o no es oxidada, es destinada a la formación de músculo esquelético (35). Por eso, muchos nutricionistas en la industria de alimentos para ave formulan con niveles más altos que aquellos recomendados por el NRC (36). El incremento de la lisina es implementado sin considerar otros AA's como la treonina (37).

### **3.13 Impacto del nivel de proteína sobre el requerimiento de aminoácidos**

Aunque existe un acuerdo no generalizado de que el nivel de AA's indispensables necesario para un máximo desempeño se ve afectado por el nivel de proteína de la dieta, existen numerosos puntos de vista respecto a la relación exacta que guardan los requerimientos de AA's y los niveles de proteína en la ración. Un punto de vista es que el requerimiento de un AA indispensable se incrementa en proporción directa con la proteína de la dieta, asumiendo que un segundo AA no llega a ser limitante (38). Otro punto de vista es que el requerimiento de un AA indispensable se incrementa en función de su porcentaje en la dieta pero disminuye en función de su porcentaje en la concentración de proteína de la ración. Un tercer punto de vista es que existe poca necesidad de controlar el contenido de proteína en la dieta siempre y cuando se hayan cubierto los requerimientos de AA's indispensables. Aún cuando esta situación parece ser válida cuando las dietas están balanceadas en forma ideal respecto a los AA's indispensables que cuando no lo están (39), el balanceo de AA's no es el único factor que determina el requerimiento de un AA conforme aumenta la proteína en la dieta (1, 2, 38). Esta regla de proporcionalidad queda bien establecida para las dietas con contenido limitante de proteína y puede ser explicada mediante la hipótesis de que, conforme se incrementa el

aporte del primer AA limitante, la respuesta tope queda determinada por el aporte del segundo AA limitante.

En conclusión, parece ser que si los niveles de proteína de la dieta se encuentran por debajo del requerimiento pero dentro de un perfil "ideal" de AA's, puede ser válido el hecho de que exista una relación directa entre el AA limitante y la proteína de la dieta. Sin embargo, dentro de ciertos niveles de proteína en los cuales los AA's no son limitantes (por ejemplo, por encima del requerimiento definido) parece ser que el requerimiento del primer AA limitante se incrementa como porcentaje de la dieta, al disminuir gradualmente la proteína (7).

### **3.14 Impacto de la suplementación de aminoácidos sobre el equilibrio entre aniones y cationes**

Aun cuando la mayor parte del alimento formulado para pollo de engorda está compuesto con maíz y pasta de soya, existen ingredientes que podrían ser utilizados de manera alterna (40). Sin embargo, la utilización de estos ingredientes requiere determinar cuales son los AA's que limitan su capacidad de ser digeridos y utilizados con fines productivos. Además del conocimiento de cómo utilizar ingredientes alternativos, también es importante conocer la forma en que los AA's cristalinos pueden ser incorporados a los programas nutricionales. Debido a que actualmente se dispone de AA's cristalinos en la industria, es posible reducir el exceso de AA's en la dieta y brindar la oportunidad de satisfacer las necesidades del ave con más exactitud (31). Un exceso de AA's no sólo produce desperdicio, pues el animal no tiene el potencial de convertirlo en proteínas para el cuerpo, sino que

además se ha sugerido que deprime el rendimiento generando una producción de carne poco eficiente y costosa (32).

El metabolismo de los AA's ejerce influencia y a su vez es influenciado por el equilibrio ácido-básico. Sin embargo, aún no están claros los aspectos prácticos resultantes de la modificación de dicho equilibrio. Se sabe que las enzimas poseen un rango de pH óptimo para su estructura y actividad y que la ionización de muchos metabolitos es afectada por el pH. Sin embargo, las respuestas de los animales a las alteraciones del equilibrio ácido-básico se expresan sólo en forma colectiva y pueden reducir el rendimiento del ave. De hecho, las respuestas típicas a la modificación del equilibrio ácido-básico muestran que el cambio en el pH sanguíneo es relativamente pequeño, pues las aves son capaces de compensar las variaciones del contenido ácido ó básico de la dieta (9). La acidez de la dieta es amortiguada en parte por el bicarbonato sanguíneo, lo cual genera la conversión del bicarbonato en ácido carbónico y finalmente en bióxido de carbono, el cual es eliminado con el aire expirado. Por lo tanto, conforme la acidez de la dieta se incrementa, puede notarse una disminución en la concentración de bicarbonato sanguíneo. (9)

Se ha establecido la relación existente entre el metabolismo de la lisina y el contenido de sales ácidas o alcalinas en la dieta (41). O'Dell y Savage reportaron que la suplementación realizada con sales alcalinas (bicarbonato de sodio y potasio) alivió el antagonismo existente entre la lisina y la arginina; mientras que, dicho antagonismo no se vió afectado por la adición de sales neutras como cloruro de sodio y potasio (42). A su vez, una sal ácida (cloruro de calcio) exacerbó el antagonismo entre lisina y arginina (41).

Por otro lado, las deficiencias de AA's o las interacciones existentes entre ellos pueden reducir la eficiencia en la utilización de AA's de la dieta, incrementando así su catabolismo, lo cual hace que el animal vire hacia un estado fisiológico más ácido generando una depresión potencial del crecimiento (3).

No resulta necesaria la adición de sales alcalinas cuando se incrementa el uso de AA's sintéticos. Sin embargo, esta situación puede cambiar si se disminuye el nivel de pasta de soya a rangos en que los niveles dietéticos de potasio sean extremadamente bajos incrementando dramáticamente la acidez de la dieta. En la actualidad, la principal inquietud respecto a la acidez de una dieta está relacionada con el uso de dietas altamente purificadas, con las cuales se ha conseguido un mejor desempeño de los pollos al adicionar bicarbonato de sodio (7, 31).

Además de los aspectos referentes al desempeño biológico y económico, la compatibilidad entre la alimentación animal y el medio ambiente está cobrando importancia en la producción animal. Debido a la alta densidad y concentración manejadas en la producción de pollos de engorda, a la falta de terreno disponible para depositar el excremento y a las altas concentraciones de nitrógeno en las aguas superficiales y subterráneas, factores que constituyen un problema de contaminación de gran magnitud, resulta necesario implementar mecanismos para reducir la eliminación de nitrógeno por las aves. Fisiológicamente, parte de la proteína de la dieta no es digestible, siendo eliminada en las heces una gran proporción de nitrógeno como resultado de la degradación de los AA's que no son empleados en la síntesis de proteínas corporales (43). Por lo tanto, mientras más cercano se encuentre el nivel de AA's de la dieta a los requerimientos del animal, más eficientemente se utilizará la proteína y menor será la cantidad de nitrógeno excretada en las heces. Una posible alternativa para reducir la eliminación de nitrógeno consiste en evitar la administración de niveles excesivos de

proteína en el alimento, formulando la ración de acuerdo a los requerimientos del ave y administrando un mejor balance de proteína en la dieta, lo cual implica el mejoramiento de la digestibilidad y disponibilidad de sus AA's. Para evitar un aporte excesivo de AA's, podría reducirse la cantidad de PC en la dieta y suplirla con diversos AA's sintéticos (33).

No obstante parece ser que ligeros excesos de AA's tienen poco efecto sobre el desempeño de las aves, el exceso de proteína en la dieta puede tener un impacto negativo en el medio ambiente, lo que debe ser considerado al formular dietas para pollo de engorda (39).

### **3.15 Manganeso y reducción de proteína**

Con la reducción de proteína en dietas para pollo, se reduce la contaminación por nitrógeno en las heces. Esto permite la adición de AA's sintéticos, que mejoran la relación real entre AA's y, por consiguiente, el desarrollo de las aves. Así, las investigaciones relacionadas con la fisiología del pollo deberán dirigirse a reconsiderar los requerimientos de nutrientes, pues su tasa de crecimiento es la más rápida entre los animales productivos; excesos o deficiencias son vitales en los primeros días de crecimiento. Conforme disminuye la proteína de la dieta, deberá incrementarse el nivel de lisina y metionina, AA's que contienen más energía (44). Estudios anteriores han indicado que al reducir la proteína de la dieta y aumentar la concentración de AA's sintéticos es importante tener en consideración el balance electrolítico con relación a lisina y arginina, pues el metabolismo de estos AA's se ve influenciado por el equilibrio ácido-básico, y la ionización de muchos metabolitos también se ve influenciada por el pH. De hecho, se sabe que el rendimiento del ave disminuye cuando se producen alteraciones de pH (9, 41). No obstante, no se ha determinado la causa por la cual pollos

de engorda pueden presentar problemas de piernas cuando son alimentados con dietas bajas en proteína.

Morales y Leeson evaluaron dietas formuladas con energía metabolizable y neta, las cuales contenían niveles bajos de PC. Estos investigadores encontraron que al reducir la proteína en dietas para pollo, algunos parámetros productivos como la ganancia de peso y el consumo de alimento fueron afectados. Así mismo, observaron problemas en piernas sugestivos de perosis cuando los pollos fueron alimentados con dietas formuladas con niveles de 12 y 14% PC, y suplementadas con AA's sintéticos. Finalmente encontraron una mayor concentración de Mn en las excretas de pollos alimentados con estos porcentajes de PC (10).

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**

#### 4. HIPÓTESIS

La formulación de dietas de iniciación para pollo de engorda de 1 a 21 días bajo el concepto de PI, considerando niveles bajos de inclusión de PC y los requerimientos de AAD en esta etapa productiva, mejora el rendimiento del ave durante las tres primeras semanas de vida y el crecimiento de la tibia no presenta alteraciones, lo cual no ocurre con dietas formuladas con base a los requerimientos de AAT y con los más bajos porcentajes de inclusión de PC. En ambos casos, los niveles de FA en suero son indicativos.

## 5. OBJETIVOS

- Evaluar el rendimiento productivo de pollos de engorda en crecimiento de 1 a 21 días mediante la determinación del consumo de alimento, ganancia diaria de peso y conversión alimenticia; alimentados con dietas bajas en PC y formuladas para cubrir los requerimientos de AAT y AAD.
- Determinar si las dietas experimentales conducen a la presentación de perosis u otra alteración en el desarrollo de la tibia, analizando el crecimiento de las placas de crecimiento de este hueso hasta los 21 días de edad.
- Determinar el efecto de la alimentación de los pollos con las dietas experimentales, mediante el análisis de los niveles sanguíneos de FA en las primeras 3 semanas de vida.
- Determinar si existe relación entre los niveles de FA en suero y desarrollo óseo de la tibia.

## 6. MATERIAL Y MÉTODOS

El presente trabajo se llevó a cabo en las instalaciones avícolas del Campo Experimental Valle de México, del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), de la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA), Estado de México. En coordinación con el Departamento de Producción Animal: Aves, de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México. Para el presente estudio se utilizaron 240 pollitos de engorda machos de la estirpe Hubbard x Hubbard de 1 día de edad, procedentes de una incubadora comercial en el estado de Morelos. Fueron alojados en baterías con calefacción eléctrica y distribuidos completamente al azar en un arreglo factorial 3 x 2 con 6 tratamientos, con cuatro réplicas de 10 aves cada una. Uno de los factores fue el nivel de proteína de la dieta, empleando porcentajes de 12, 14 y 16% PC. El otro factor fue la formulación de las dietas con los requerimientos de AAT, y AAD de acuerdo al concepto de PI propuesto por Baker y Han en 1994 (5). Las dietas fueron formuladas utilizando el Software Nutrión y elaboradas con maíz y pasta de soya (Anexos, Cuadro 1). Fueron incluidos los aminoácidos sintéticos DL-metionina, L-lisina, L-treonina, L-triptófano y L-arginina para cubrir los requerimientos de las aves en cuanto a AAT y AAD.

El agua y alimento durante la fase experimental (día 1 al 21) fueron administrados *ad libitum*. Se analizó el comportamiento productivo de los pollos obteniendo el consumo semanal de alimento y la ganancia de peso de 1 a 21 días de edad para obtener la conversión alimenticia. Se tomaron muestras de sangre de 5 pollos por tratamiento y fueron evaluados en el suero los niveles de FA mediante la técnica descrita por Bowers y McComb (28) (Anexos, Técnica 1) a los 3, 7, 14, 17 y 21 días de edad. Previo a la toma de muestras de sangre, el alimento era retirado una hora antes. Con

las mismas aves se realizaron mediciones de las placas de crecimiento óseo de la tibia [proliferativa proximal (PP), medial proximal (MP), total proximal (TP), proliferativa distal (PD), medial distal (MD) y total distal (TD)] y de la tibia completa en los mismos días de muestreo de sangre.

Los datos obtenidos de las variables en estudio se analizaron utilizando el procedimiento GLM del SAS Institute, según el diseño experimental utilizado (45). Los análisis de medias se realizaron mediante la prueba de Tukey. El modelo utilizado fue:

$$Y_{ijk} = \mu + P_i + A_j + (P \cdot A)_{ij} + E_{ijk}$$

Donde:

$Y_{ijk}$  = Valor de la variable de respuesta (ganancia de peso, conversión alimenticia, nivel de fosfatasa alcalina, valor de la placa de crecimiento del hueso) correspondiente al  $i$ -ésimo nivel de proteína (Pi) y al  $j$ -ésimo tipo de aminoácido (Aj) en la  $k$ -ésima repetición.

$\mu$  = Media general poblacional para ganancia de peso, conversión alimenticia, nivel de fosfatasa alcalina, y valor de la placa de crecimiento del hueso.

$P_i$  = Efecto del  $i$ -ésimo nivel de proteína.

$A_j$  = Efecto del  $j$ -ésimo tipo de aminoácido.

$(P \cdot A)_{ij}$  = Efecto de la interacción del  $i$ -ésimo nivel de proteína y del  $j$ -ésimo tipo de aminoácido.

$E_{ijk}$  = Error experimental, asociado a cada una de las observaciones.

## 7. RESULTADOS

### 7.1 Parámetros productivos

Los resultados obtenidos en la evaluación de los parámetros productivos se muestran en el Cuadro 2 (Anexos). En cuanto a *ganancia de peso*, hubo diferencias estadísticamente significativas (DES) entre niveles de proteína y tipos de formulación así como la interacción. Entre los grupos tratados con 16% PC, fue mayor el valor para el que recibió AAT ( $P < 0.05$ ). Este grupo también resulto diferente y mayor ( $P < 0.05$ ) que el de 12% PC y AAD. No se observaron DES ( $P > 0.05$ ) en el promedio de los grupos para el factor AA.

Entre los grupos tratados con AAT, hubo DES ( $P < 0.05$ ) entre los grupos 12% y 16% PC, siendo mayor la ganancia de peso para éste último. En cuanto al promedio de los grupos con distinto porcentaje de PC, se observaron DES ( $P < 0.05$ ) entre 12%, con los grupos de 14 y 16% PC, siendo mayor el valor para éste último porcentaje.

Los pollos alimentados con 16% PC presentaron la mayor ganancia de peso en promedio (408 - 19.69) sobre todo cuando fueron considerados los AAT (448 +/- 17.57). Aunque no existieron DES ( $P > 0.05$ ) entre los promedios de los tratamientos con 14 y 16% PC, el valor numérico de los grupos con 16% fue superior al de 14% PC. Por ello, se puede concluir que los pollos ganaron más peso cuando fueron alimentados con 16% de PC y adicionados con AAT.

Referente al *consumo de alimento* de las aves, no hubo DES entre tipo de formulación, pero para proteína el promedio de los grupos tratados con 12% PC presentó DES ( $P < 0.05$ ) con los promedios de los tratados con 14 y 16%, siendo mayor el consumo en los pollos alimentados con 16% PC (496 +/- 20). No se observaron DES ( $P > 0.05$ ) cuando fueron considerados los AAT o AAD; sin embargo, los pollos alimentados con 16% PC y AAD tuvieron un mayor consumo (502 +/- 30.46) que los que fueron alimentados con 16% PC y AAT (490 +/- 29.22). Aunque no hubo DES ( $P > 0.05$ ) entre los promedios de los tratamientos con 14 y 16% PC, el valor numérico del promedio de 16% PC fue superior al de 14% PC. Por lo tanto, los pollos consumieron más alimento cuando fueron alimentados con 16% PC (y AAD). Se puede considerar que los pollos que ganaron más peso fueron los que más alimento consumieron (16% de PC).

Finalmente, aunque no hubo DES ( $P > 0.05$ ) entre grupos para ningún factor ni entre tratamientos, los pollos que presentaron un mejor valor numérico de *conversión alimenticia* fueron los alimentados con 16% PC y AAT, mismos que fueron los que ganaron más peso y, comparados con los alimentados con 16% PC y AAD, consumieron menos alimento.

Los pollos alimentados con 16% de PC presentaron los mejores parámetros productivos en cuanto Ganancia de Peso (se puede decir que también en cuanto a Conversión Alimenticia). De estos, los que recibieron AAT tuvieron mejor Conversión Alimenticia que los que recibieron AAD, ya que su consumo de alimento fue menor y ganaron más peso.

## 7.2 Fosfatasa alcalina

Los resultados obtenidos en la evaluación de los niveles de FA se muestran en el Cuadro 3 (Anexos). En la *primera evaluación*, al día 3 de edad, los AA's considerados en forma digestible o totales no afectaron los niveles de FA entre los distintos tratamientos ( $P>0.05$ ). Los promedios de los grupos para el factor AA no presentaron DES ( $P>0.05$ ). Los grupos tratados con 12% PC mostraron niveles de FA menores y hubo DES ( $P<0.05$ ) respecto a los tratados con 14 y 16% PC. Entre estos dos últimos porcentajes no se presentaron DES ( $P>0.05$ ). Los promedios de los grupos para el factor PC no presentaron DES ( $P>0.05$ ).

En la *segunda evaluación*, al día 7 de edad, el tipo de AA sí tuvo efecto en los niveles de FA analizados. Se observaron DES ( $P<0.05$ ) entre los grupos con 12% PC, siendo mayor el nivel con AAD. Sin embargo, el valor fue mayor con AAT respecto a AAD cuando se empleó 16% PC ( $P<0.05$ ). De hecho, el nivel de FA que se observó en éste grupo fue el más alto en esta evaluación. No hubo DES ( $P>0.05$ ) entre los promedios de los grupos para el factor AA. Por otro lado, se observaron DES ( $P<0.05$ ) entre los grupos con 12% y 16% PC. Aunque no hubo DES ( $P>0.05$ ) entre los promedios de estos dos porcentajes de PC, el valor del promedio de los grupos con 16% PC fue mayor.

En la *tercera evaluación*, al día 14 de edad, el tipo de AA tuvo efecto entre los grupos con 16% PC, siendo mayor el valor cuando se consideraron los AAD ( $P<0.05$ ). De hecho, el nivel de FA del grupo 16% PC y AAT fue el menor y presentó DES ( $P<0.05$ ) con el resto de los tratamientos (excepto con el grupo 12% PC y AAT). Se observaron DES ( $P<0.05$ ) para los efectos principales en el factor AA,

ya que el valor promedio de FA fue menor con AAT que con AAD. Para el factor proteína, el nivel promedio de los grupos con 16% resultó más bajo ( $P<0.05$ ) que con 14% PC.

En la *cuarta evaluación*, al día 17 de edad, no hubo diferencia ( $P>0.05$ ) en ninguno de los tratamientos ni para los efectos principales.

En la *quinta evaluación*, al día 21 de edad, se presentaron DES ( $P<0.05$ ) entre los grupos con 16% PC, siendo mayor el nivel de FA cuando se consideraron los AAD; de hecho, éste fue el grupo con el nivel más alto en esta evaluación. Así mismo, el nivel promedio de FA fue mayor ( $P<0.05$ ) para el factor principal AAD respecto a AAT. Para el factor principal PC, el nivel promedio con 12% fue menor ( $P<0.05$ ) que con 14 %.

En el Cuadro 4 (Anexos) se observan los valores promedio de los cinco muestreos. No se observaron DES ( $P>0.05$ ) entre tratamientos. Para los efectos principales, los grupos tratados con AAD presentaron un nivel mayor de FA ( $P<0.10$ ) que con AAT (gráfica 1). Finalmente, aunque no existieron DES entre los promedios de los porcentajes de PC, el de los grupos con 14% fue mayor.

En términos generales, los niveles de FA más bajos fueron los de los grupos tratados con 12% PC. Los niveles fueron similares entre 14 y 16% PC, sin embargo, conforme los días pasaron, los niveles de FA fueron mayores con 14% PC, como lo fue al día 14 y 21.

Respecto a la forma en que fueron considerados los AA's, los niveles más altos de FA correspondieron a los grupos con AAD. Cuando se observaron DES entre el tipo de AA, el valor más alto correspondió a los grupos con AAD. Incluso cuando no hubo DES, el valor más alto fue para los

grupos con AAD. Esta tendencia se manifestó desde el día 3 hasta el día 21, siendo más evidente los días 14 y 21 de edad del pollo. De hecho, en estos días los valores del grupo con 14% PC y AAD fueron de los más altos en cada muestreo.

### 7.3 Placas de crecimiento del hueso

Los resultados promedio obtenidos en las mediciones de las placas de crecimiento de la tibia a los 3, 7, 14, 17 y 21 días se muestran en el Cuadro 5 (Anexos). Para la placa PP, TP, MD, TD y tamaño de la tibia, no hubo DES ( $P > 0.05$ ) entre los niveles de PC o el tipo de AA. Sin embargo, la placa PD fue mayor ( $P < 0.05$ ) con 16% de PC y AAT que con 12% de PC y AAD. Para el factor principal PC, el promedio fue mayor ( $P < 0.05$ ) con 16% que con 12%. Para la placa MP hubo DES ( $P < 0.05$ ) para el factor AA, siendo más grande el promedio de la medida para AAD.

En forma general, y a pesar de que no en todos los casos hubo DES, las placas de crecimiento de la tibia (excepto TP), incluyendo la tibia completa, presentaron un mayor tamaño promedio en los grupos con 16% PC. El factor AA sólo influyó en forma evidente en la placa MP, resultando mayor el promedio con AAD.

## 8. DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en el presente estudio respecto a la evaluación de los parámetros productivos, indican que el consumo de alimento y la ganancia de peso disminuyeron ( $P < 0.05$ ) al decrecer el nivel de proteína en la dieta. A pesar de no encontrar diferencias ( $P > 0.05$ ) en la conversión alimenticia, los resultados concuerdan con lo publicado por Morales y Leeson (10) quienes al reducir el nivel de PC de dietas para pollo, observaron una disminución en el consumo de alimento y en la ganancia de peso. Summers, en un estudio realizado en 1993, empleó niveles bajos de PC en la dieta y observó que tanto el consumo de alimento como el desarrollo corporal de las aves experimentales se vieron afectados (32). Okomura y Yamaguchi notaron que la adición de un 3% de AA's sintéticos a una dieta semipurificada y baja en PC redujo el desempeño productivo de los pollos (46). En estudios realizados con cerdos, algunos investigadores encontraron que las deficiencias de AA's o las interacciones existentes entre ellos, pueden reducir significativamente la eficiencia en la utilización de los AA's de la dieta incrementando así su catabolismo; lo cual hace que el animal vire hacia un estado fisiológico más ácido generando una depresión potencial del crecimiento (47, 48, 49, 50). Las pruebas evaluadas en cerdos por estos autores, muestran efectos positivos con la adición de sales alcalinas a dietas bajas en proteína y deficientes en lisina, similar a lo sugerido por Baker *et al*, quienes observaron que al disminuir el nivel de pasta de soya a rangos en que los niveles de potasio sean muy bajos, incrementando la acidogenicidad de la dieta, ésta puede ser controlada con la adición de bicarbonato (31).

Referente a los resultados obtenidos en la evaluación de los niveles de FA, en términos generales los niveles fueron más bajos cuando los pollos recibieron dietas con el menor contenido en PC

(12%). Los niveles fueron similares entre los porcentajes 14 y 16%. Sin embargo, conforme los días transcurrieron, los niveles de FA resultaron mayores con las dietas de 14% PC. como ocurrió los días 14 y 21.

Respecto a la forma en que fueron considerados los AA's, los niveles más altos de FA correspondieron a los grupos alimentados con dietas formuladas a partir de AAD. Cuando se observaron DES entre el tipo de AA, el valor más alto correspondió a los grupos con AAD; incluso cuando no las hubo. Esta tendencia se observó desde el día 3 hasta el día 21, siendo más evidente los días 14 y 21. Incluso en estos días, los valores del grupo alimentado con 14% PC y AAD fueron de los más altos.

Teniendo en consideración los valores promedio de los cinco muestreos realizados, los grupos tratados con AAD presentaron un nivel mayor de FA ( $P < 0.10$ ) que con AAT. Aunque no hubo DES, el promedio de los resultados promedio totales de 1 a 21 días en los grupos con 14% fue mayor que con 12 y 16% PC. Debido a lo anterior, es posible considerar que después de la segunda semana de vida del pollo los valores de FA se pueden incrementar cuando las dietas son formuladas con base a los requerimientos de AAD, y un porcentaje razonablemente más alto de PC. En la metodología del presente estudio se consideraron porcentajes de inclusión de PC que, en comparación con los utilizados en las dietas comerciales de iniciación y crecimiento para pollo de engorda, resultan bajos, incluyendo el nivel más alto empleado en este estudio (16%). Sin embargo, para poder determinar la existencia de alguna correlación positiva entre el nivel de la enzima y el porcentaje de inclusión de PC en la dieta, debió considerarse un porcentaje de 22 ó 23% PC.

Fue común observar que los niveles de FA se incrementaban en algún tratamiento y posteriormente disminuían. Probablemente el hecho de tomar las muestras de sangre después de una hora de ayuno de los pollos pudo tener algún efecto en los niveles de FA, y el hecho de muestrear al azar las aves de una cierta repetición pudo incrementar el error experimental. Consecuentemente al analizar los datos de todos los muestreos, no se obtuvo diferencia y el error estándar de la media varió. Resulta difícil bajo condiciones prácticas realizar evaluaciones relacionadas con algunas enzimas como FA, ya que su nivel en sangre está ligado al consumo de alimento y al tiempo transcurrido después de su ingestión. Sturkie menciona que el paso del alimento desde que es ingerido hasta que es excretado, es de aproximadamente 2 horas. Considerando este dato, se decidió esperar una hora para poder hacer el análisis de los niveles de FA (51).

Cabe señalar que no se dispone de algún trabajo similar anterior al presente para comparar los resultados obtenidos. Sin embargo, Kaczanowska en 2001 midió el nivel de FA en codornices de 1 a 104 semanas de edad, observando que de 1 a 2 semanas los niveles se incrementaban. Lo mismo ocurría 8 semanas después del inicio de postura (52).

Como se mencionó anteriormente, los niveles promedio de FA encontrados fueron mayores ( $P < 0.10$ ) cuando se consideraron AAD. En las gráficas 1, 2, 3, 4 y 5 (Anexos) es posible observar que los niveles de inclusión de AA's sintéticos fueron mayores cuando las dietas fueron formuladas bajo el concepto de PI y AAD. A excepción de la metionina, parece ser que una mayor inclusión de AA's sintéticos (lisina, treonina, arginina y triptófolano) tiene relación con un mayor nivel de FA.

Un ión metálico unido a un compuesto orgánico constituye un quelato, el cual puede ser altamente absorbible. Los AA's sintéticos son 99% disponibles, y pueden llegar a unirse con ciertos minerales

como el Mn para ser absorbidos más rápidamente en el intestino como quelatos y transportados a los tejidos. Sin embargo, se ha mencionado que el quelato puede resultar indisponible para plantas y animales al formar complejos metálicos insolubles (15). Por ejemplo, Morales y Leeson en 2000 pudieron determinar que gran parte del Mn incluido en dietas de pollo de engorda no era absorbido en el tracto gastrointestinal. Por el contrario, era excretado en gran porcentaje en las excretas de las aves, mismas que presentaron posteriormente lesiones características de perosis. Las dietas experimentales que emplearon fueron formuladas bajo el concepto de PI, con bajos porcentajes de PC y altos niveles de inclusión de AA's sintéticos buscando cubrir los requerimientos de AAD. Cabe señalar también que el nivel de Mn de esas dietas se encontraba muy por debajo del utilizado en la formulación de dietas comerciales en México. Finalmente, los autores pudieron concluir que los AA's sintéticos quelaron al poco Mn contenido en las raciones, formando complejos poco absorbibles. De esta manera, el Mn necesario para un adecuado desarrollo óseo de los pollitos no estuvo disponible, siendo la causa principal de la alta incidencia de perosis la deficiencia de este mineral traza (10).

En un estudio similar, Wedekind *et al.*, observaron problemas en patas de pollos por deficiencia de Mn, generadas a su vez por una excesiva concentración de fósforo en la dieta (53). Concluyeron que excesos de calcio y fósforo, al igual que en el caso de los AA's sintéticos reportado por Morales y Leeson (2000) pueden limitar la absorción de Mn en el tracto gastrointestinal (10).

El Mn es uno de los principales minerales involucrados en el metabolismo de los AA's. Entre otras funciones, participa en la activación de las enzimas fosfatasa y arginasa y, como se mencionó anteriormente, en la formación de quelatos con los AA's de la dieta. Aunque en el presente estudio no se realizó evaluación alguna para determinar la participación del Mn en la síntesis de FA, es probable que gran parte del mineral contenido en las dietas haya sido acarreado junto con los AA's

sintéticos y, de esta forma, ambos hayan sido utilizados en la activación de esta enzima. A diferencia del estudio realizado por Morales y Leeson en 2000 (10), en este estudio se utilizó un nivel de inclusión de Mn muy superior a los requerimientos del pollo, empleando Mn Albión®, quelatado con AA's para facilitar su absorción. En apoyo a lo anterior, Scott *et al* mencionaron que la síntesis y activación de FA a nivel óseo se ven disminuidas en aves alimentadas con dietas deficientes en Mn. Otros investigadores han observado que los niveles de FA aumentan en procesos patológicos como tumores o lesiones que involucran al sistema óseo (15).

Como se describió en la revisión de literatura de este trabajo, dentro de la fisiología de la formación del hueso, en el proceso de cambio de cartilago a hueso y durante el proceso de crecimiento existen factores que participan activamente. Entre ellos se encuentran algunas citocinas que actúan como factores del crecimiento (IGFs). Los factores del crecimiento TGF- $\alpha$  y TGF- $\beta$  controlan la proliferación, diferenciación y actividad de la línea de células osteoblásticas para la formación del hueso. La actividad de FA (marcador de la maduración fenotípica de los osteoblastos) en parte es regulada por los factores IGF-1 y TGF- $\beta$ . Estos factores funcionan como reguladores muy importantes de las células precursoras de los osteoblastos. En los sistemas celulares donde la TGF- $\beta$  inhibe la proliferación celular, la actividad de FA se incrementa; por el contrario, cuando la proliferación celular es estimulada, disminuye. Con esto, pudiera esperarse que en los grupos que recibieron dietas con 12% PC y en los cuales las aves presentaron algunas placas de crecimiento óseo con menor tamaño, se hubieran registrado los niveles más altos de FA. Sin embargo, fueron los más bajos. Esto pudiera tener su explicación en el trabajo realizado por Kaczanowska en 2001, quien notó que en algunos casos de discondroplasia tibial, los niveles de FA disminuyeron al inicio de la presentación del problema, pero una vez que las lesiones óseas estuvieron bien definidas, los niveles se elevaron de manera significativa (52). De manera similar, Rath *et al*, (1994), en una

investigación realizada con pavos que presentaron discondroplasia de la tibia, midieron la FA y también encontraron al principio de su estudio un nivel menor que en los animales control. Hubiera resultado interesante determinar si los niveles de FA pudieran incrementarse en los pollos con bajo desarrollo de las placas de crecimiento hasta una edad mayor, siempre y cuando algún problema óseo se hubiera hecho evidente (54).

Por otro lado, se ha mencionado que al inicio de un proceso patológico que se presenta cuando los huesos están en pleno desarrollo, los niveles de FA primero aumentan y posteriormente disminuyen. Los resultados obtenidos en el presente estudio concuerdan con lo anterior, pues en los pollos de los grupos con 12% PC, mismos que presentaron las placas con menor desarrollo, los niveles de FA mostraron una tendencia ascendente hasta el día 17, para declinar posteriormente al día 21.

El tejido óseo de los pollos es el primero en desarrollarse, pues es la base para que los siguientes tejidos como el muscular se desarrollen. Por ello, en las primeras semanas de vida este tejido crece rápidamente y los niveles de vitaminas, minerales y hormonas involucradas deben ser los adecuados. Debido a ello, una alimentación que cubra totalmente los requerimientos nutricionales resulta indispensable. Sin embargo, las dietas formuladas con 12% PC no cubrieron el requerimiento necesario de este nutriente; lo cual, aunado a la disminución en el consumo de los pollos alimentados con éstas, pudo ser la causa principal de que algunas placas epifisarias de la tibia presentaran un menor desarrollo.

El hecho de que la placa de crecimiento *Proliferativa Distal* haya presentado un menor tamaño al disminuir la PC a 12%, concuerda con lo aseverado en la literatura de que la epifisis proximal de la tibia se ve afectada cuando se suministran dietas bajas en Mn. Por otro lado, la placa *Medial*

*Proximal* del hueso presentó un mayor desarrollo con las dietas que contenían AAD que con AAT. A pesar de no encontrar diferencias en las otras placas de crecimiento, las que se presentaron pueden sugerir que un bajo porcentaje de PC en la dieta no es suficiente para que la epífisis de la tibia se desarrolle adecuadamente.

Por lo anterior, es importante considerar los efectos que ocasiona el uso de bajos niveles de PC en la dieta al formular bajo el concepto de PI, ya que al hacerlo se puede afectar el desarrollo óseo de pollos en crecimiento. En especial, cuando se incrementan los AA's sintéticos y no se ajustan los niveles de ciertos macrominerales y/o minerales traza (52).

Coelho *et al*, evaluaron el desarrollo endocondral de aves de la estirpe Hubbard-Peterson hasta la sexta semana de vida y observaron cambios en la articulación tibio-tarsiana sólo hasta la tercera semana, entre los que reportan: 1) hipertrofia y separación de la banda en el primer día de vida, 2) estabilización de la epífisis en la primera semana, y 3) aparición de un centro secundario de osificación en la epífisis a la tercera semana excepto en los machos, en los cuales el centro apareció a la cuarta semana de vida. Después de ello no se presentaron cambios conformacionales, únicamente un aumento de tamaño en las epífisis de los huesos. Con esto se ratifica la importancia y necesidad de proporcionar a los pollos dietas de iniciación y crecimiento que cubran sus requerimientos de nutrientes, particularmente durante el primer mes de vida, que es cuando ocurre gran parte del desarrollo de la articulación que soportará gran parte del peso del pollo (55).

Liu *et al*, estudiaron la influencia del Mn en las características de los peptidoglicanos del cartilago de la epífisis en crecimiento, observando cambios cualitativos en ellos cuando había deficiencia. El papel del Mn durante la formación del cartilago epifisial está relacionado con la síntesis de

peptidoglicanos, los cuales constituyen la matriz extracelular del cartilago (56). De acuerdo con esto y considerando que en la formulación de las dietas experimentales se utilizó Mn quelatado con AA's por encima de los requerimientos del pollo, es difícil atribuir a una deficiencia de Mn la disminución del grosor en las placas de crecimiento cuando estas se presentaron, principalmente en los grupos con 12% PC.

## 9. CONCLUSIONES

De los resultados obtenidos en este estudio se concluye que:

- La ganancia de peso, el consumo de alimento, y la conversión alimenticia disminuyen al reducir la PC de 16 a 12 % en las raciones de iniciación para pollo.
- Al incrementar la inclusión de AA's sintéticos para cubrir los requerimientos de AAD de las aves en dietas con bajos niveles de proteína, se incrementan los niveles de FA.
- Las aves con mayores niveles de FA mostraron un mejor desarrollo en las placas de crecimiento de la tibia.
- La medición de la placa de crecimiento *Proliferativa Distal* fue mayor con 16% que con 12% PC.
- La medición de la placa *Medial Proximal*, fue mayor con AAD que con AAT.
- El hecho de incrementar el nivel de AA's sintéticos en dietas de iniciación para cubrir los requerimientos de las aves, con niveles bajos de proteína, incrementa los niveles de FA, lo cual tiene correlación con la osificación del hueso. La formulación de dietas bajo el concepto de PI lo hace más evidente, pues se requiere de una mayor adición de AA's sintéticos para cubrir las necesidades de AAD, que cuando se consideran los requerimientos de AAT.

## 10. LITERATURA CITADA

1. Abebe S, Morris RT. Note on the effects of protein concentration on responses to dietary lysine by chicks. *Poult Sci* 1990;31:255-260. (a)
2. Abebe S, Morris RT. Effects of protein concentration on responses to dietary tryptophan by chicks. *Poult Sci* 1990;31:267-272. (b)
3. Fernandez S, Aoyagi S, Han Y, Parsons MC, Baker HD. Limiting order of amino acids in corn and soybean meal. *P Sci* 1994;73:1887-1896.
4. Baker HD, Han Y. Digestible amino acid requirements of broiler chickens during two growth periods. *P Sci* 1993;72:55.
5. Baker HD, Han Y. Ideal amino acids profile for broiler chicks during the first three weeks posthatching. *P Sci* 1994;73:1441-1447.
6. Kerr JB. Revisión crítica de la investigación sobre dietas bajas en proteína y suplementadas con aminoácidos para pollos de engorda. *Memorias del Quinto Ciclo de Conferencias sobre Aminoácidos Sintéticos*; 1993 septiembre 17-19; México (DF). México (DF): Fermentaciones Mexicanas, SA de CV, 1993:34-36.
7. Kerr JB. Consideraciones prácticas en la utilización del concepto de la proteína ideal en pollo de engorda. *Memorias del Sexto Ciclo de Conferencias sobre Aminoácidos Sintéticos*; 1994 septiembre 12-14; Mexico (DF). México (DF): Fermentaciones Mexicanas, SA de CV. 1994:28-30.
8. Moran TE, Chen X, Blake PJ. Comparison of broiler strain crosses developed in the US and UK using corn and wheat based feeds: live performance and processing of males for nine piece cuts. *J Appl Poult Res* 1993;2:26.

9. **Austic ER.** Suplementación de aminoácidos para dietas bajas en proteínas y su impacto en el balance ácido-base en pollos de engorda. Memorias del Noveno Ciclo de Conferencias sobre Aminoácidos Sintéticos; 1997 septiembre 12-14; México (DF). México (DF): Fermentaciones Mexicanas, SA de CV, 1997:1-9.
10. **Morales E, Leeson S.** Formulación de dietas para pollos en crecimiento con energía metabolizable y neta disminuyendo la proteína y su efecto en la absorción del manganeso. Memorias de la XXV Convención Anual ANECA; 2000 mayo 2-4; Cancún (Quintana Roo) México. México (DF): Asociación Nacional de Especialistas en Ciencias Avícolas de México, AC, 2000:197-203.
11. **Calnek BW.** Enfermedades de las aves. 1a ed. México DF:El Manual Moderno. 1995:71-72.
12. **Junqueira LC, Carneiro J.** Histología Básica. 1a ed. México DF:Editorial Salvat,1976.
13. **Stevens A, Stevens LJ.** Texto y atlas de histología.1a ed. México: Mosby/doyma libros, 1993.
14. **Guyton CA.** Tratado de Fisiología Médica. 5a ed. México DF:Editorial Interamericana,1977.
15. **Scott LM, Nesheim CM, Young JR.** Nutrition of the chicken. 3a ed. NY:M.L. Scott & Associates,1982.
16. **Johnston SL, Southern LL.** The effect of varying mix uniformito (simulated) of Phytase on grown performance, mineral retention, and bone mineralization in chicks. Poult Sci 2000;79:10:1485-1490.
17. **Auckland JN.** The effect of low protein feeding and realimentation on skeletal growth and proportions in two strains of male turkey. Poult Sci 1972;13:251-266.
18. **Rizk SW, Stake PE, Simmons RW.** Curled toes and perosis-likes leg abnormalities in cage-reared broilers. Poult Sci 1980;59:308-315.
19. **Jukes TH.** Effect of choline and other supplements on perosis. J Nutr 1940;20:445-450.

20. Schaefer AE, Salmon WD, Strength DR, Copeland HD. Interrelationship of folacin, vitamin B12 and choline. J nutr. 1950;40:95-107.
21. Gries CL, Scott ML. The pathology of thiamin, riboflavin pantothenic acid and niacin deficiencies in the chick. J Nutr 1972;102:1269-1286.
22. Phillips PH, Engel RW. Neuromalacia associated with low riboflavin diets a preliminary report. Poult Sci 1938;17:463-465.
23. Geraert PA, Padilha FCJ, Guillaumin S. Growth performance, body composition, and energy retention. Br J Nutr 1996;75:195-204.
24. Serfontein PJ, Payne LF. Inheritance of abnormal anatomical condition in the tibial metatarsal joint. Poult Sci 1934;13:61-63.
25. Somes RG. Genetic perosis in the domestic fowl. J Hered. 1969;60:163-166.
26. Thomas KW, Lowther DA. Manganese levels and the morphology of the epiphyseal plate in broilers with slipped tendons. Poult Sci 1976;55:1962-1968.
27. Antillon RA, Lopez CC. Enfermedades nutricionales de las aves. 1a ed. México DF:FMVZ UNAM SUA, 1987
28. Moss DW, Henderson R. Enzymes. En Burtis CA, Ashwood ER. Tietz textbook of clinical chemistry. Philadelphia Pennsylvania:WB Saunders Company, 1994;32:735-896.
29. Firman JD, Boiling SD. Ideal protein in turkeys. Poult Sci 1998;77:105-110.
30. Baker HD. Ideal amino acid profiles for swine and poultry and their applications in feed formulation. Memorias del Noveno Ciclo de Conferencias sobre Aminoácidos Sintéticos: 1997 septiembre 12-14; México (DF). México (DF): Fermentaciones Mexicanas, SA de CV. 1997:9.



31. Baker HD, Robbins RK, Buck SJ. Modification of the level of histidine and sodium bicarbonate in the Illinois crystalline amino acid diet. *Poult Sci* 1979;58:749-750.
32. Jackson S, Summers DJ, Leeson S. Effect of dietary protein and energy on broiler performance and Production costs. *Poult Sci* 1982;61:2232-2240.
33. Arias J. Proteínas de tercera generación: una proteína ideal para cada especie: máximo rendimiento y excreción mínima de nitrógeno. Memorias de la sexta ronda latinoamericana de Alltech; 1996 octubre 25-27; México (DF). México (DF): Alltech. 1996:73-83.
34. Harper EA, Benevenga JN, Wohlhueter MR. Effects of ingestion of disproportionate amounts of amino acids. *Physiol Rev* 1970;72:701-708.
35. Yamashita K, Ashida K. Effect of levels of lysine and threonine on the metabolism of these amino acids in rats. *J Nutr* 1971;101:1607-1614.
36. National Research Council. Nutrient Requirements of Domestic Animals, Nutrient Requirements of Poultry. 9th ed. National Academy Press, Washington, DC, 1994.
37. Kidd MT, Kerr JB. L- threonine for poultry: a review. *J Appl Poult Res* 1996;5:358-367.
38. Kidd MT, Kerr JB, Allard PJ, Rao KS, Halley TJ. Limiting aminoacid responses in commercial broilers. *J Appl Poult Res* 2000;9:223-233
39. Surisdianto, Farrell JD. The relationship between dietary crude and dietary lysine requirement by broiler chicks on diets with and without the "ideal" amino acid balance. *Poult Sci* 1991;70:830.
40. Bellaver C, Brum PAR, Lima GMM, Boff J, Kerber J. Partial substitution of soyabean meal with poultry offal meal in diets formulated according to the protein and total or digestible amino acid requirement of broilers. *Revista brasileira de ciencia avícola* 2001;3:233-240.
41. Austic ER, Calvert CC. Nutritional interrelationships of electrolytes and aminoacids. *Fed Proc* 1981;40:63.

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**

42. O'Dell LB, Savage EJ. Arginine-lysine antagonism in the chick and its relationship to dietary cations. *J Nutr* 1966;105:364.
43. Karasawa Y, Maeda M. Effect of colostomy on the utilization of dietary nitrogen in the fowl fed on a low protein diet. *Poult Sci* 1992;33:815-820.
44. Buttin, P. Dynamic amino acid balance in growing-finishing diets: More methionine for lower protein, higher energy hog feeds. *Feed Mgmt* 1998;49:5:15-18.
45. SAS. SAS/STAT users guide. Version 6.12. 4th ed. Cary (NC):SAS Institute Inc., 1989.
46. Okomura J, Yamaguchi K. Effect of excess of individual essential amino acids in diets on chicks. *Poult Sci* 1980;17:135.
47. Miller RE, Ku KP, Combs RN, Ullrey ED. Continued studies of the lysine sparing potential of organic salts of potassium in swine diets. *J Anim Sci* 1984;59:1:96.
48. Froseth AJ, Ku KP, Bergen GW, Miller RE. Effects of dietary sodium level on the response to supplemental potassium of pigs fed a low lysine diet. *J Anim Sci* 1983;57:1:245.
49. Wahlstrom CR, Siyoto LS, Libal WG. Effect of potassium and lysine supplementation on performance of young pigs fed low potassium diets. *Nutr Rep Int* 1983;28:1159.
50. Giesting, WD, Roos AM, Easter AR. Evaluation of the effect of fumaric acid and sodium bicarbonate addition on performance of starter pigs fed diets of different types. *J Anim Sci* 1991;69:2489.
51. Sturkie PD. *Fisiología aviar*. 2da ed. Zaragoza España:Acribia. 1968:59-60.
52. Kaczanowska TE. The effect of age and sex on bone mineralization and on plasma calcium, phosphorus and alkaline phosphatase concentration in the quail (*Coturnix coturnix* Pharaoh). *Medycyna Weterinarna* 2001;57:11:827-831.
53. Wedekind KJ, Baker DH. Manganese utilization in chicks as affected by excess calcium and phosphorus ingestion. *Poult Sci* 1990;69:977-984.



54. Rath CN, Bayyari RG, Balog MJ, Huff EW. Physiological studies of turkey tibial dyschondroplasia. *Poult Sci* 1994;73:416-424.
55. Coelho HE, Mariana ANB, Nova MPV. Endochondral bone development in fowls (Hubbard-Peterson lineage). *Veterinaria noticias* 2001;7:1:39-44.
56. Liu ACH, Heinrichs BS, Leach RM. Influence of manganese deficiency on the characteristics of proteoglycans of avian epiphyseal growth plate cartilage. *Poult Sci* 1994;73:663-669.

## 11. ABREVIATURAS EMPLEADAS

AA	Aminoácido
AA's	Aminoácidos
AAD	Aminoácidos Digestibles
AAT	Aminoácidos Totales
DES	Diferencias Estadísticamente Significativas
FA	Fosfatasa Alcalina
MD	Placa Medial Distal
Mn	Manganeso
MP	Placa Medial Proximal
PC	Proteína Cruda
PD	Placa Proliferativa Distal
PI	Proteína Ideal
PP	Placa Proliferativa Proximal
TD	Placa Total Distal
TP	Placa Total Proximal

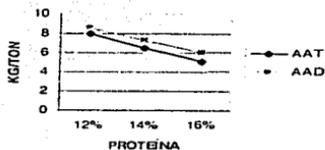
## 12. ANEXOS

Cuadro 1. Dietas utilizadas para pollo de engorda de 0 a 21 días de edad.

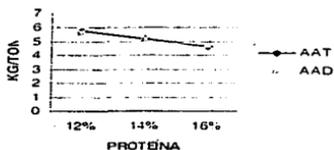
<i>Ingredientes</i>	<i>AAT</i>			<i>AAD</i>		
	<i>12% PC</i>	<i>14% PC</i>	<i>16% PC</i>	<i>12% PC</i>	<i>14% PC</i>	<i>16% PC</i>
Maíz	833.472	782.052	730.632	825.558	773.214	720.870
Pasta de soya	99.689	152.093	204.497	101.177	153.755	206.332
Ortofosfato	21.152	19.285	17.419	21.133	19.264	17.395
Carbonato de calcio	12.932	13.607	14.282	12.936	13.611	14.287
Sal (NaCl)	3.500	3.500	3.500	3.500	3.500	3.500
Aceite crudo	2.799	7.843	12.888	5.399	10.747	16.095
L-lisina HCl	7.970	6.537	5.103	8.640	7.321	6.002
DL-Metionina	5.728	5.174	4.620	5.627	5.154	4.680
L-arginina	5.923	4.278	2.633	7.647	6.126	4.605
L-treonina	3.756	2.917	2.078	5.080	4.335	3.590
L-triptofano	0.779	0.414	0.049	1.002	0.673	0.344
Vitaminas	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
Cloruro de colina	0.300	0.300	0.300	0.300	0.300	0.300
Minerales	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
<i>Análisis calculado</i>						
Proteína cruda %	12.000	14.000	16.000	12.000	14.000	16.000
Grasa cruda %	6.194	6.380	6.567	6.400	6.610	6.821
Fibra cruda %	5.275	5.405	5.534	5.244	5.370	5.496
Calcio total %	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
Fósforo disponible %	0.450	0.450	0.450	0.450	0.450	0.450
EM (MC/Kg) %	3.060	3.060	3.060	3.060	3.060	3.060
Met + cistina %	1.000	1.000	1.000	0.989	0.997	1.005
Triptofano %	0.200	0.200	0.200	0.222	0.226	0.230
Lisina %	1.300	1.300	1.300	1.369	1.380	1.392
Arginina %	1.250	1.250	1.250	1.423	1.435	1.448
Treonina %	0.800	0.800	0.800	0.932	0.941	0.950
Isoleucina %	0.453	0.549	0.645	0.454	0.550	0.646
Leucina %	1.206	1.351	1.495	1.204	1.348	1.493
Histidina %	0.319	0.375	0.430	0.319	0.375	0.430
Lisina dig %	1.231	1.220	1.208	1.300	1.300	1.300
Metionina dig %	0.759	0.728	0.698	0.748	0.726	0.703
Met + cis dig %	0.951	0.943	0.935	0.940	0.940	0.940
Treonina dig %	0.738	0.729	0.720	0.870	0.870	0.870
Triptofano dig %	0.188	0.184	0.180	0.210	0.210	0.210
Arg dig %	1.187	1.175	1.162	1.360	1.360	1.360

**GRÁFICAS. NIVELES DE INCLUSION DE AMINOÁCIDOS SINTÉTICOS EN LAS DIETAS EXPERIMENTALES.**

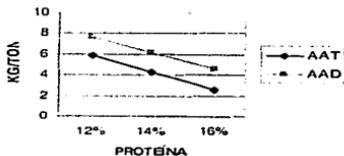
**GRAFICA 1. LISINA**



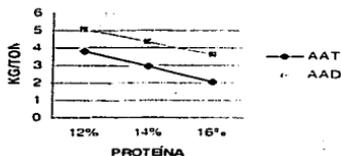
**GRAFICA 2. METIONINA**



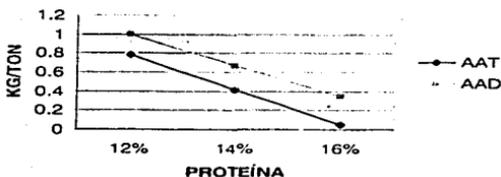
**GRAFICA 3. ARGININA**



**GRAFICA 4. TREONINA**



**GRAFICA 5. TRIPTOFANO**



**Cuadro 2. Resultados promedio\* obtenidos de los parámetros productivos evaluados en pollos de 0 a 21 días de edad.**

<b>% Proteína</b>	<b>12</b>	<b>14</b>	<b>16</b>	<b>Promedio</b>
<b>Aminoácido</b>	<b>Ganancia de peso (g)</b>			
AAT	341 <sup>b</sup> ± 3.81	373 <sup>ab</sup> ± 11.47	448 <sup>a</sup> ± 17.57	387 ± 13.68
AAD	334 <sup>b</sup> ± 16.42	397 <sup>ab</sup> ± 20.34	369 <sup>b</sup> ± 25.32	367 ± 13.17
Promedio	337 <sup>b</sup> ± 8.04	385 <sup>A</sup> ± 11.67	408 <sup>A</sup> ± 19.69	
	<b>Consumo de alimento (g)</b>			
AAT	409 ± 15.73	460 ± 8.81	490 ± 29.22	453 ± 13.67
AAD	407 ± 0.19	503 ± 31.05	502 ± 30.46	470 ± 18
Promedio	408 <sup>D</sup> ± 7.43	481 <sup>A</sup> ± 16.86	496 <sup>A</sup> ± 20	
	<b>Conversión alimenticia</b>			
AAT	1.24 ± 0.014	1.23 ± 0.03	1.09 ± 0.052	1.19 ± 0.027
AAD	1.23 ± 0.05	1.27 ± 0.08	1.38 ± 0.11	1.29 ± 0.049
Promedio	1.23 ± 0.028	1.25 ± 0.04	1.23 ± 0.076	

\* Valores dados como Promedio +/- Error Estándar de la Media

AA = aminoácidos. T= totales. D= digestibles

a, b/ Medias con diferente literal comparadas por columna y fila son diferentes ( $P < 0.05$ )

A, B Medias con diferente literal comparadas por fila son diferentes ( $P < 0.05$ )

**Cuadro 3. Resultados promedio\* obtenidos de cada muestreo de fosfatasa alcalina en sangre en pollos de 0 a 21 días de edad.**

<b>PC (%)</b>	<b>12</b>	<b>14</b>	<b>16</b>	<b>Promedio</b>
<b>Aminoácidos</b>	<b>Muestreo 3 días</b>			
AAT	6066 <sup>c</sup> ± 493	9766 <sup>ab</sup> ± 528	8966 <sup>ab</sup> ± 323	8267 ± 606
AAD	7366 <sup>bc</sup> ± 425	9866 <sup>ab</sup> ± 877	10300 <sup>a</sup> ± 490	9184 ± 556
Promedio	6717 ± 411	9827 ± 458	9633 ± 397	
	<b>Muestreo 7 días</b>			
AAT	11153 <sup>c</sup> ± 1016	15340 <sup>abc</sup> ± 220	19093 <sup>a</sup> ± 1499	15196 ± 1261
AAD	18080 <sup>ab</sup> ± 454	14060 <sup>bc</sup> ± 1531	13126 <sup>c</sup> ± 778	15089 ± 916
Promedio	14617 ± 1626	14700 ± 748	16110 ± 1533	
	<b>Muestreo 14 días</b>			
AAT	15460 <sup>ab</sup> ± 1507	19340 <sup>a</sup> ± 1523	11183 <sup>b</sup> ± 552	15328 <sup>a</sup> ± 1339
AAD	20023 <sup>a</sup> ± 2706	21883 <sup>a</sup> ± 443	20093 <sup>a</sup> ± 1375	20650 <sup>b</sup> ± 933
Promedio	17742 <sup>AB</sup> ± 1720	20587 <sup>A</sup> ± 901	15638 <sup>B</sup> ± 2099	
	<b>Muestreo 17 días</b>			
AAT	33170 ± 3713	30193 ± 7671	34466 ± 3300	32610 ± 2713
AAD	30153 ± 4887	43075 ± 7883	39046 ± 4184	37425 ± 3503
Promedio	31662 ± 2826	36634 ± 5700	36757 ± 2594	
	<b>Muestreo 21 días</b>			
AAT	15660 <sup>b</sup> ± 1099	25576 <sup>ab</sup> ± 888	14020 <sup>b</sup> ± 247	18419 <sup>b</sup> ± 1852
AAD	23153 <sup>ab</sup> ± 1619	29200 <sup>a</sup> ± 5276	29846 <sup>a</sup> ± 1928	27400 <sup>a</sup> ± 1996
Promedio	19407 <sup>A</sup> ± 1890	27388 <sup>B</sup> ± 2526	21933 <sup>AB</sup> ± 3644	

\* Valores dados como Promedio +/- Error Estandar de la Media

AA = Aminoácidos, T= totales, D= digestibles

a, b/ Medias con diferente literal comparadas por columna y fila son diferentes (P<0.05)

A, B Medias con diferente literal comparadas por fila y por columna son diferentes (P<0.05)

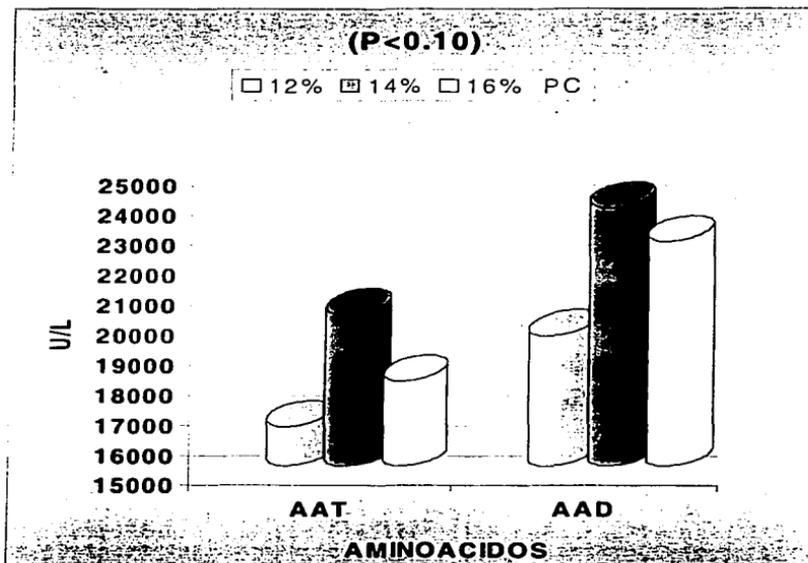
**Cuadro 4. Resultados promedio totales\* de los muestreos de fosfatasa alcalina en sangre en pollos de 0 a 21 días de edad.**

<b>PC (%)</b>	<b>12</b>	<b>14</b>	<b>16</b>	<b>Promedio</b>
<b>AAT</b>	16302 ± 2546	20043 ± 2349	17831 ± 2683	18604 <sup>A</sup> ± 1442
<b>AAD</b>	19755 ± 2218	23621 ± 3544	22482 ± 2971	21806 <sup>B</sup> ± 1698
<b>Promedio</b>	17813 ± 1695	21827 ± 2115	20237 ± 2022	

\* Valores dados como Promedio +/- Error Estándar de la Media

AA = Aminoácidos, T= totales, D= digestibles

A, B = Medias con diferente literal por columna son diferentes ( $P < 0.10$ )



GRAFICA 1. NIVELES PROMEDIO TOTALES (HASTA LOS 21 DÍAS) DE FOSFATASA ALCALINA SÉRICA EN POLLOS CON DIETAS FORMULADAS CON AMINOÁCIDOS TOTALES Y DIGESTIBLES, BAJAS EN PROTEINA.

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**

**Cuadro 5. Resultados totales promedio\* de las mediciones de las placas de crecimiento del hueso en pollos de 0 a 21 días de edad.**

PC (%)	12	14	16	Promedio
Aminoácido	<b>Proliferativa proximal</b>			
AAT	1.23±0.039	1.24 ± 0.053	1.32 ± 0.097	1.26±0.38
AAD	1.22±0.050	1.37 ± 0.079	1.33±0.076	1.30±0.39
Promedio	1.22±0.031	1.30±0.048	1.31±0.059	
	<b>Medial proximal</b>			
AAT	0.56± 0.192	0.70±0.133	0.49±0.236	0.58 <sup>a</sup> ± 0.116
AAD	0.95±0.221	0.81 ± 0.242	1.11± 0.229	0.97 <sup>b</sup> ±0.132
Promedio	0.76±0.148	0.75±0.149	0.79±0.175	
	<b>Total proximal</b>			
AAT	5.22 ± 0.88	5.27 ± 0.841	4.69 ± 0.986	5.05±0.51
AAD	5.15 ± 0.849	5.35± 0.891	5.22 ± 0.754	5.24±0.47
Promedio	5.18±0.602	5.31±0.603	5.05±0.624	
	<b>Proliferativa distal</b>			
AAT	1.02 <sup>ab</sup> ± 0.039	1.05 <sup>ab</sup> ± 0.025	1.16 <sup>a</sup> ± 0.61	1.07 ± 0.266
AAD	0.99 <sup>b</sup> ± 0.30	1.07 <sup>ab</sup> ± 0.039	1.09 <sup>ab</sup> ± 0.036	1.05 ± 0.021
Promedio	1.00 <sup>b</sup> ± 0.024	1.06 <sup>ab</sup> ± 0.023	1.12 <sup>a</sup> ± 0.037	
	<b>Medial distal</b>			
AAT	0.74±0.198	0.62 ± 1.77	0.89 ± 0.247	0.75±0.119
AAD	0.70± 179	0.72 ± 0.175	0.71±0.131	0.71±0.093
Promedio	0.72±0.131	0.69±0.122	0.79±0.141	
	<b>Total distal</b>			
AAT	4.5±0.821	4.49 ± 0.785	7 ± 0.875	5.33±0.498
AAD	4.89± 0.891	4.62 ± 0.767	4.87±0.792	4.79±4.659
Promedio	4.69±0.597	4.55±0.54	05.93±0.610	
	<b>Tamaño del Hueso</b>			
AAT	39.64±2.07	41.29 ± 2.31	41.76±2.38	40.89±1.26
AAD	39.74±2.06	40.27± 2.20	42.07±2.61	40.69±1.27
Promedio	39.69±1.44	40.78±1.54	41.35±1.69	

\* Valores en milímetros dados como Promedio +/- Error Estándar de la Moda

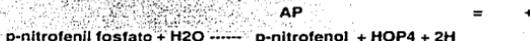
AA. Aminoácidos. T= totales. D= digestibles

a, b/ Medias con diferente literal por columna y fila son diferentes (P<0.05)

### Técnica 1. Método de Bowers y McComb para determinación de Fosfatasa Alcalina Sérica.

#### Principio.

La fosfatasa alcalina hidroliza el sustrato de p-nitrofenil fosfato (p-NPP) para formar el cromógeno amarillo p-nitrofenol de acuerdo a la siguiente ecuación:



El índice de crecimiento en absorbancia de la mezcla de la reacción a 405nm, debido a la formación de p-nitrofenol, es proporcional a la actividad de la fosfatasa alcalina.

#### Reactivos.

Buffer (pH 10.24 a 30°C).

3.0 mmol/L de acetato de magnesio.

16 mmol/L de p-NPP ditis.

#### Instrumentos.

Puede usarse cualquier instrumento con control de temperatura de +/- 0.5 °C que sea capaz de leer la absorbancia con exactitud, con una sensibilidad de 0.001 de absorbancia a 405nm. El ancho de la banda deberá ser de 10nm o menos, la desviación de la luz de 0.5% o menos y la exactitud de longitud de onda dentro de los 2nm.

#### Material requerido.

1. Un instrumento que reúna los requisitos mencionados en la sección de instrumentos.
2. Cubetas de 1cm o una celda de flujo capaz de transmitir luz a 405nm.
3. Tubos de ensayo con capacidad de 3mL.
4. Pipetas capaces de depositar volúmenes de 2.5ml y de 25mL.
5. Agua desionizada
6. Cronómetro
7. Baño de agua que pueda ajustarse a 30 ó 37°C.

#### Condiciones.

Longitud de onda..... 405nm  
Temperatura..... 1cm  
Tipo de reacción..... cinética

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**

Tiempo de reacción..... 4-10 minutos  
 Volumen de la muestra..... 25mL.  
 Volumen de reactivo..... 2.5ml  
 Volumen total..... 2.525mL.  
 Relación muestra/reactivo..... 1/100

**Procedimiento.**

1. Prepare el volumen requerido de reactivo de AP.
2. En tubos de ensayo separados, pipeté 25mL del suero que se desee muestrear.
3. Agregue 2.5ml del reactivo, mezcle e incube de uno a tres minutos a 30 ó 37°C. El tiempo de reacción disminuirá si el reactivo es precalentado a la temperatura de incubación.
4. Registre la absorbancia en intervalos de un minuto hasta que el cambio de absorbancia sea constante.

**Resultados.**

La actividad de la fosfatasa alcalina se expresa en unidades por litro (U/L).

**Cálculo.**

Fosfatasa (U/L)=  $\frac{A/\text{min} \times \text{volumen del ensayo (ml)} \times 1000}{18.8 \times \text{paso de luz (cm)} \times \text{volumen de la muestra (ml)}}$   
 Alcalina =  $A/\text{min} \times 5372$   
 A/min = cambio en absorbancia por minuto  
 Volumen del ensayo = volumen total de la reacción expresado en ml  
 1000 = convierte las U/ml a U/L  
 18.8 = coeficiente de absorción del p-nitrofenol a 405nm  
 Paso de luz = longitud del paso de luz en expresada en cm (usualmente 1.0)  
 Volumen de la muestra = volumen de la muestra expresado en ml  
 5372 = factor derivado de las constantes en la ecuación



**Ejemplo.**

**Fosfatasa alcalina (U/L)=  $0.013 \times 2.525 \times 1000$**

$$18.8 \times 1 \times 0.025$$

$$= 0.013 \times 5372$$

$$= 70 \text{ U/L}$$

**0.013 = cambio en absorbancia por minuto**

**2.525 = volumen de la reacción total expresado en ml**

**1000 = convierte las U/ml a U/L**

**18.8 = coeficiente de absorbancia del NADPH**

**1 = paso de luz en cm**

**0.025 = volumen de la muestra en ml**

**5372 = factor derivado de las constantes en la ecuación**