

UNIVERSIDAD CENTRAL DE VENEZUELA
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS
POSTGRADO DE MEDICINA VETERINARIA



EFFECTOS DEL ACEITE DE PIJIGUAO (*Bactris gasipaes*), PALMA (*Elaeis guinensis*), MAÍZ (*Zea mays*), PESCADO Y GRASA AMARILLA SOBRE EL COMPORTAMIENTO PRODUCTIVO Y METABOLISMO LIPÍDO, RESPUESTA INMUNE Y FUNCIÓN CARDÍACA EN GALLINAS PONEDORAS

M.V., MSc. ADRIANA MÉNDEZ
Tutor: M.V., PhD. RUBEN E. VARGAS

Tesis Doctoral, presentada ante la Ilustre Universidad Central de Venezuela, como requisito parcial para optar al título de Doctor en Ciencias Veterinarias

ÍNDICE

CONTENIDO	Página
Resumen.....	11
Abstract.....	14
Introducción.....	16
Objetivo General.....	18
Objetivos Específicos.....	18
2. Revisión Bibliográfica.....	19
2.1. Efectos de diferentes tipos de aceites y grasas sobre el comportamiento productivo y calidad de los huevos en gallinas ponedoras.....	19
2.2. Efectos de los lípidos sobre la respuesta inmune en aves.....	31
2.3. Efectos de los lípidos sobre el desarrollo embrionario de las aves.....	34
2.4. Efectos de los lípidos sobre la actividad cardiaca.....	36
2.5. Metabolismo de los Lípidos en las Aves.....	38
2.5.1. Digestión, absorción y transporte de las grasas.....	38
2.5.2. Metabolismo de las lipoproteínas.....	43
2.5.2.1. Metabolismo de los portomicrones.....	46
2.5.2.2. Metabolismo de las VLDL.....	46
2.5.2.3. Metabolismo de las IDL y LDL.....	47
2.5.2.4. Metabolismo de las HDL.....	48
2.6. Síntesis e incorporación de los lípidos a la yema del huevo.....	51
3. Materiales y Métodos.....	55
3.1. Obtención y análisis de los aceites y la grasa.....	55
3.2. Dietas y manejo general de las gallinas ponedoras.....	56

3.3. Evaluación del comportamiento productivo.....	63
3.4. Evaluación de la calidad de los huevos.....	63
3.5. Evaluación de los parámetros reproductivos.....	63
3.6. Inmunización de las gallinas.....	64
3.7. Análisis de las variables hematológicas.....	65
3.8. Evaluación ecosonográfica de la estructura y función cardíaca.....	65
3.9. Análisis de la composición de los lípidos del suero, pechuga y huevos.....	66
3.10. Histopatología de los tejidos.....	66
3.10. Análisis estadístico.....	67
4. Resultados.....	68
4.1. Características físico-química y perfil de los principales ácidos grasos de los aceites y grasa evaluadas.....	68
4.2. Comportamiento productivo.....	68
4.3. Calidad de los huevos.....	70
4.4. Contenido de Grasa en dieta, yema y pechuga.....	76
4.5. Perfil lipídico en plasma sanguíneo.....	79
4.6. Fertilidad y peso de los pollitos.....	84
4.7. Función cardíaca y lesiones aterosclerótica en la aorta torácica.....	85
4.8. Hematología y evaluación histológica del bazo.....	90
4.9. Respuesta inmune primaria.....	99
5. Discusión.....	102
5.1. Características físico-química y perfil de los principales ácidos grasos de los aceites y grasa evaluadas.....	102
5.2. Comportamiento productivo.....	103
5.3. Calidad de los huevos.....	105

5.4. Contenido de Grasa en dieta, yema y pechuga.....	106
5.5. Perfil lipídico en plasma sanguíneo.....	107
5.6. Fertilidad y peso de los pollitos.....	108
5.7. Función cardíaca y áreas sudanofilicas en la aorta torácica.....	109
5.8. Hematología y evaluación histológica del bazo.....	112
5.9. Respuesta inmune primaria.....	116
6. Conclusiones.....	118
7. Bibliografía.....	120

ÍNDICE DE TABLAS

	Página
1. Ácidos grasos en la dieta y en la yema del huevo usando diferentes fuentes de lípidos en la dieta.....	23
2. Perfil de ácidos grasos (%) de las dietas experimentales.....	25
3. Efecto del tipo de dieta sobre la composición en ácidos grasos de la yema del huevo.....	26
4. Principales características de las lipoproteínas de las aves...	45
5. Apoproteínas en humanos y aves.....	45
6. Composición porcentual y análisis nutritivo calculado de las dietas experimentales con aceite de pijiguao.....	58
7. Composición porcentual y análisis nutritivo calculado de las dietas experimentales con aceite de palma.....	59
8. Composición porcentual y análisis nutritivo calculado de las dietas experimentales con aceite de maíz.....	60
9. Composición porcentual y análisis nutritivo calculado de las dietas experimentales con aceite de pescado.....	61
10. Composición porcentual y análisis nutritivo calculado de las dietas experimentales con grasa amarilla.....	62
11. Características físico-químicas y perfil lipídico de los aceites de pijiguao, palma, maíz, pescado y grasa amarilla.....	69
12. Efecto de diferentes niveles de aceites de pijiguao, palma, maíz, pescado y grasa amarilla sobre los parámetros productivos de gallinas ponedoras durante 8 semanas de experimentación.....	72
13. Efecto de la interacción tipo de grasa y nivel de inclusión	

sobre la producción de huevos de gallinas ponedoras durante 8 semanas de experimentación.....	73
14.Efecto de dietas con distintos niveles de aceites de pijiguao, palma, maíz, pescado y grasa amarilla sobre la calidad de los huevos.....	74
15.Efecto de la interacción tipo de grasa y nivel de inclusión sobre el color de las yemas de los huevos de gallinas ponedoras durante 8 semanas de experimentación.....	75
16.Efecto de la interacción tipo de grasa y nivel de inclusión sobre el peso de las cascara de los huevos de gallinas ponedoras durante 8 semanas de experimentación.....	75
17.Efecto de los diferentes niveles de aceites de pijiguao, palma, maíz, pescado y grasa amarilla sobre el contenido de grasa en yema y pechuga.....	77
18.Efecto de la interacción tipo de grasa y nivel de inclusión sobre el contenido de grasa en las yemas de los huevos de gallinas ponedoras durante 8 semanas de experimentación...	78
19. Efecto de la interacción tipo de grasa y nivel de inclusión sobre el contenido de grasa en las pechugas de las gallinas ponedoras durante 8 semanas de experimentación.....	78
20.Efecto de diferentes niveles de aceites de pijiguao, palma, maíz, pescado y grasa amarilla sobre el perfil lipídico de las gallinas ponedoras.....	81
21.Efecto de la interacción tipo de grasa y nivel de inclusión sobre el contenido de colesterol sanguíneo de las gallinas ponedoras durante 8 semanas de experimentación.....	82
22.Efecto de la interacción tipo de grasa y nivel de inclusión sobre el contenido de triglicéridos sanguíneos de las gallinas	82

ponedoras durante 8 semanas de experimentación.....	
23.Efecto de la interacción tipo de grasa y nivel de inclusión sobre el contenido de HDLc sanguíneo de las gallinas ponedoras durante 8 semanas de experimentación.....	83
24.Efecto de la interacción tipo de grasa y nivel de inclusión sobre el contenido de LDLc de las gallinas ponedoras durante 8 semanas de experimentación.....	83
25.Efecto de diferentes niveles de aceites de pijiguao, palma, maíz, pescado y grasa amarilla sobre la fertilidad y el peso de los pollitos al nacimiento.....	84
26.Efectos de dietas con distintos niveles de los aceites de pijiguao, palma, maíz, pescado y grasa amarilla sobre la función cardiaca de las gallinas ponedoras luego de 8 semanas de ensayo.....	87
27.Efecto de la interacción tipo de grasa y nivel de inclusión sobre la frecuencia cardiaca de las gallinas ponedoras durante 8 semanas de experimentación.....	88
28.Efecto de dietas con diferentes niveles de aceites de pijiguao, palma, maíz, pescado y grasa amarilla sobre la formación de superficies sudanófilica en la aorta torácica de las gallinas, luego de 8 semanas de ensayo.....	89
29.Efecto de distintos niveles de aceites de pijiguao, palma, maíz, pescado y grasa amarilla sobre la hematología sanguínea.....	92
30.Efecto de la interacción tipo de grasa y nivel de inclusión sobre la cantidad de globulos blancos de las gallinas ponedoras durante 8 semanas de experimentación.....	93
31.Efecto de la interacción tipo de grasa y nivel de inclusión	93

sobre la cantidad de globulos rojos de las gallinas ponedoras durante 8 semanas de experimentación.....	94
32.Efecto de la interacción tipo de grasa y nivel de inclusión sobre la cantidad de hematocrito de las gallinas ponedoras durante 8 semanas de experimentación.....	94
33.Efecto de la interacción tipo de grasa y nivel de inclusión sobre la cantidad de hemoglobina de las gallinas ponedoras durante 8 semanas de experimentación.....	95
34.Efecto de la interacción tipo de grasa y nivel de inclusión sobre la CHCM de las gallinas ponedoras durante 8 semanas de experimentación.....	95
35.Efecto de la interacción tipo de grasa y nivel de inclusión sobre el VCM de las gallinas ponedoras durante 8 semanas de experimentación.....	96
36.Efecto de la interacción tipo de grasa y nivel de inclusión sobre el porcentaje de heterofilos de las gallinas ponedoras durante 8 semanas de experimentación.....	96
37.Efecto de la interacción tipo de grasa y nivel de inclusión sobre el porcentaje de eosinofilos de las gallinas ponedoras durante 8 semanas de experimentación.....	97
38.Efecto de la interacción tipo de grasa y nivel de inclusión sobre el porcentaje de linfocitos de las gallinas ponedoras durante 8 semanas de experimentación.....	98
39.Efecto de dietas con distintos niveles de los aceites de pijiguao, palma, maíz, pescado y grasa amarilla sobre el análisis histopatológico del bazo de las gallinas, luego de 8 semanas de ensayo.....	100
40.Efecto de dietas con distintos niveles de aceites de pijiguao,	

palma, maíz, pescado y grasa amarilla sobre la respuesta inmune de las gallinas.....	101
41.Efecto de la interacción tipo de grasa y nivel de inclusión sobre la producción de anticuerpos de gallinas ponedoras durante 8 semanas de experimentación.....	102

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
1. Cambios en el contenido de grasa en los huevos provenientes de gallinas de 26 a 62 semanas de edad.....	20
2. Acción de la lipasa pancreática.....	39
3. Síntesis de lípidos en el enterocito y formación de portomicrones en aves.....	42
4. Metabolismo de las lipoproteínas en aves.....	44

RESUMEN

El objetivo principal de esta investigación fue evaluar el efecto del aceite de pijigao (*Bactris gasipaes*), en comparación con los aceites de maíz (*Zea mays L.*), pescado, palma aceitera (*Elaeis guinensis*) y la grasa amarilla sobre el comportamiento productivo de gallinas ponedoras. También se evaluaron los efectos sobre la respuesta inmune primaria, la función cardíaca, la hematología, la respuesta reproductiva y la composición lipídica de huevos y pechuga, de las gallinas. Se utilizaron 640 gallinas de 32 semanas de edad, de la línea comercial *Hy Line Brown*. Se asignaron 4 grupos de 8 gallinas a cada dieta experimental, de acuerdo a un diseño completamente aleatorizado en arreglo factorial (5x4). Se evaluaron 20 dietas resultantes de la combinación de los 5 tipos de grasa (T) y 4 niveles de incorporación (0; 3; 6 y 9%) en la ración (N). La energía metabolizable de las dietas varió entre 2.780 y 3.250 kcal EM/kg, manteniéndose la relación energía / nutrientes constante en 163. El experimento duró 8 semanas. Al finalizar el periodo experimental, las gallinas fueron inseminadas y los huevos fueron incubados para determinar la fertilidad de los huevos y el peso de los pollitos al nacer. Asimismo, las gallinas fueron inoculadas con el antígeno A24 de la fiebre aftosa para determinar la respuesta inmune humoral primaria. Se tomaron también muestras de aorta y bazo para análisis histopatológicos. Finalmente, a cuatro gallinas por dieta experimental se les realizó la evaluación ecocardiográfica. Los resultados indican que, bajo las condiciones experimentales del estudio, todas las dietas evaluadas permitieron lograr un adecuado comportamiento productivo de las gallinas. La producción de huevos de las aves que consumieron la dieta con aceite de pijigao fue similar a la dieta con

aceite de palma pero superior ($p < 0,02$) a las dietas que contenían aceite de maíz, pescado o grasa amarilla. En general, los niveles de grasa del 3 a 9% redujeron el consumo de alimento ($y = 107,31 - 1,6871(x) + 0,1732(x)^2$, $R^2 = 0,42$) $p < 0,0004$). La interacción TxN para producción de huevos fue significativa ($p < 0,002$); en cada nivel las menores producciones correspondieron al 3% de grasa amarilla y al 9% de aceite de pescado. Se detectaron interacciones significativas para otras variables, incluyendo peso de cáscaras, grasa en yemas y pechugas, perfil lipídico, frecuencia cardiaca, hematología y respuesta inmune. La calidad de los huevos fue similar con todas las dietas, aunque la pigmentación de la yema de los huevos de las gallinas que recibieron las dietas con aceite pijiguao fue más intensa que los demás aceites y grasa. La fertilidad de los huevos y el peso al nacer de los pollitos no fue afectado por las dietas experimentales. La función cardiaca de las aves con aceite de pijiguao y maíz fueron similares; en todos los parámetros evaluados. Sólo las gallinas que consumieron las dietas con aceite de pescado mostraron más áreas sudanofílicas en la superficie interna de la aorta. Los aceites de pijiguao y maíz presentaron una producción significativamente ($p < 0,0001$) más elevada de anticuerpos-anti aftosa. El más alto nivel de anticuerpos se obtuvo con la dieta con 3% de maíz. El contenido de grasa de las yemas fue superior con el aceite de pijiguao y la grasa amarilla en comparación con los otros aceites ($p < 0,0001$). En la pechuga se observó un mayor contenido de grasa, asociado con los aceites de pijiguao, maíz y pescado ($p < 0,0001$). Considerando los datos globalmente, se concluye que el aceite de pijiguao en los niveles evaluados (3-9 % de la dieta) son

compatibles con un adecuado comportamiento productivo, reproductivo, inmunológico y cardiológico de las gallinas ponedoras. No se observaron efectos dañinos en las aves asociados con el consumo de aceite de pijiguao.

Palabras clave: pijiguao (*Bactris gasipaes*), gallinas ponedoras, comportamiento productivo, fertilidad, respuesta inmune, función cardiaca, calidad de huevos.

ABSTRACT

The main objective of this investigation was to evaluate the effects of pijiiguo oil (*Bactris gasipaes*), compared to oils of corn (*Zea mays L.*), fish, oil palm (*Elaeis guinensis*) and yellow grease, on productive performance of laying hens. Additionally, the effects on reproductive parameters, primary immune response, cardiac function, hematology and lipid composition of eggs and breast were also assayed. A total of 640 hens 32 weeks old, Hy Line Brown commercial line were employed. Four groups of 8 hens each were assigned to each experimental diet, according to a completely randomized factorial arrangement (5x4) design. Twenty diets resulting from the combination of the 5 types of fat (T) and 4 levels (L) of incorporation (0, 3, 6 and 9 %) were evaluated. The metabolizable energy content of the diets varied between 2,780 and 3,250 kcal ME/kg. Energy to nutrients ratio was kept constant at 163. The experiment lasted 8 weeks. At the end of the experimental period, hens were inseminated and eggs were collected and incubated to determine fertility of eggs and chick weight at birth. Also, the hens were inoculated with a "foot and mouth disease" A24 antigen to determine the primary humoral immune response. Aorta and spleen samples for histopathological analysis were also taken. Finally, four hens per experimental diet were used to carry out an echocardiographic evaluation. The results indicate that, in general, all experimental diets were equally efficient to maintain a high rate of egg production by the hens. However, egg production from hens fed the diet with pijiiguo oil was similar to the diet with palm oil but higher ($P < 0.02$) than those diets containing corn oil, fish or yellow grease. As expected, fat levels from 3 to 9% reduced feed intake ($y = 107,31 - 1,6871(x) + 0,1732(x)^2$, $R^2 = 0,42$) $p < 0,0004$). Interaction TxL for egg production was significant ($p < 0,002$). The lowest egg production corresponded to 3% yellow grease and 9% fish oil. Other significant interactions were detected regarding egg quality variables, blood lipids, hematology, and immune response. Egg quality was similar for

all diets, although the pigmentation of egg yolk from hens receiving diets with pijiguao oil was more intense than yolks from the other diets. Egg fertility and weight of the 1-day old chicks were not affected by the experimental diets. Cardiac function of hens fed the pijiguao and corn oil diets were not significantly different. Only those hens fed diets with fish oil showed more sudanophylic coloration on the inner surface of the aorta. Pijiguao and corn oil diets had higher production of "foot and mouth disease" antibodies ($P < 0.0001$) compared to the other diets. Yolk fat content was superior in eggs laid by hens fed oil pijiguao and yellow grease diets compared to other oils ($P < 0.0001$). A higher content of breast fat was associated with pijiguao, corn, and fish diets ($P < 0.0001$). Considering the overall data, we conclude that pijiguao oil at the levels evaluated (3-9 % of the diet) will support an adequate productive, reproductive, immune and cardiac performance of laying hens. No overt deleterious effect due to pijiguao oil was observed.

Key words: pijiguao (*Bactris gasipaes*), laying hens, productive performance, fertility, immune response, hematology, heart function, egg quality.

INTRODUCCIÓN

Los aceites y grasas son utilizados en las dietas para aves ya que, además de sus aportes energéticos, mejoran la absorción de vitaminas liposolubles y la palatabilidad de las dietas (Baiao y Lara, 2005). Asimismo, diversas fuentes de lípidos han sido evaluadas en gallinas ponedoras para aumentar el peso del huevo, preservando la calidad interna y externa del mismo (Oliveira *et al.*, 2011). Este efecto depende del perfil dietético en ácidos grasos, en particular del contenido de ácidos grasos insaturados como el linoléico (C18:2).

La disponibilidad de fuentes de aceites o grasas en Venezuela para formular dietas para aves, ha sido tradicionalmente baja, en particular las provenientes de materias primas nacionales no tradicionales. La palma pijiguao (*Bactris gasipaes*) es una planta de la familia de las Arecáceae, de hasta 20 m de alto, nativa de las regiones tropicales y subtropicales de América. Se aprovecha su fruto, del cual se puede extraer aceite. Esta palma tiene un potencial de producción de entre 2.000 y 20.000 kg de aceite por ha. Venezuela cuenta con tierras aptas para este cultivo y en algunas zonas, como en el Amazonas, el fruto es directamente consumido, una vez hervido, por la población humana. El aceite del fruto de pijiguao, presenta una composición de ácidos grasos monoinsaturados (C18:1) similar al aceite de oliva que presenta 71% (Yuyama *et al.*, 2003). Investigaciones recientes (Baldizan *et al.*, 2010) indica que puede ser utilizado eficientemente en raciones para pollos de engorde, lo cual justifica la conducción de investigaciones adicionales, que respalden la utilización de este aceite en la producción comercial de aves en el país. Tales investigaciones aportarían los conocimientos biológicos necesarios para utilizar este aceite, aun en su forma cruda sin refinar, sin comprometer el comportamiento productivo y la salud de los animales. Estas investigaciones son necesarias para captar el

interés de la industria de alimento, productores y el Gobierno Nacional, con miras a convertir este cultivo en una alternativa viable para la producción y abastecimiento de las necesidades integrales de aceites y grasas en nuestro país. Actualmente, la información científica requerida, para la toma de decisiones en esta materia, no está disponible.

Objetivo general

El objetivo principal del presente trabajo de investigación fue evaluar los efectos del aceite de pijiguao (*Bactris gasipaes*) sobre el comportamiento productivo y la calidad de los huevos y músculos de la pechuga en gallinas ponedoras. Asimismo, evaluar los efectos sobre algunas variables inmunológicas, del metabolismo lipídico y del funcionamiento cardiaco en las aves alimentadas con dietas con aceite crudo de pijiguao, en comparación con otras fuentes de grasa.

Objetivos específicos

1. Determinar las características físico-químicas de los aceites de pijiguao (*Bactris gasipaes*), palma (*Elaeis guinensis*), maíz (*Zea mays*), pescado y grasa amarilla, a ser utilizados en la formulación de las dietas experimentales para gallinas ponedoras
2. Evaluar el comportamiento productivo de las gallinas ponedoras y la calidad interna de los huevos puestos, en respuesta a las dietas experimentales.
3. Determinar los valores de colesterol total, HDLc, LDLc y triglicéridos en suero de las gallinas ponedoras alimentadas con las diferentes fuentes de aceites y grasa.
4. Determinar el contenido de grasa de los huevos y músculos de la pechuga de gallinas ponedoras alimentadas con las dietas experimentales.
5. Evaluar el efecto de las dietas con aceite de pijiguao sobre la fertilidad de los huevos y el peso de los pollitos al nacer.

6. Establecer el efecto de diferentes fuentes lipídicas sobre la respuesta inmune primaria en sangre y los parámetros hematológicos de las gallinas ponedoras.
7. Evaluar los efectos de los aceites evaluados sobre la función cardiaca de las gallinas ponedoras bajo experimentación.

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1. Efectos de diferentes tipos de aceites y grasas sobre el comportamiento productivo y calidad de los huevos en gallinas ponedoras

Son numerosos los estudios que se han conducido para evaluar diferentes fuentes de aceites y grasas en la alimentación de aves (Scheideler y Froning, 1996; Baucells *et al.*, 2000), En la mayoría de los estudios, el nivel de grasa más bajo evaluado ha sido el 2% de inclusión en las dietas para gallinas ponedoras y las variables productivas más estudiadas han sido consumo de alimento, producción y peso de los huevos. En general, las gallinas ponedoras que reciben dietas suplementadas con grasa, presentan un menor consumo de alimento y una mejor eficiencia alimenticia (Grobas *et al.*, 1999a). En los experimentos de Augustyn *et al.* (2006), con incorporaciones de grasa entre 12 y 24 % en la dieta de gallinas ponedoras, el consumo de alimento se reduce hasta un 5%.

Las dietas con grasas suministradas al inicio del ciclo productivo aumentan el peso del huevo (Grobas *et al.*, 2001). Al parecer la grasa dietética induce una mayor producción de albumina mediada por una mayor estimulación del oviducto en respuesta a niveles de estrógeno aumentados por la suplementación de grasa dietética (Whitehead, 1995). De los aceites evaluados en dietas para ponedoras, el de maíz ha resultado ser el más

efectivo en incrementar el peso del huevo y la inclusión de 6% en la dieta aumenta en 2,5 g el peso del huevo (Harms *et al.*, 2000; Bohnsack *et al.*, 2002). A su vez, el tipo de ácidos grasos está relacionado con el efecto sobre el peso de los huevos. Rowghani *et al.* (2007) utilizaron dietas con aceite de canola y Cachaldor *et al.* (2008) con aceite de pescado, y no encontraron diferencias en el peso de los huevos, mientras que Kim *et al.* (2007) y Yin *et al.* (2008) reportaron reducciones en el peso del huevo al incrementar los niveles de inclusión de mezclas de ácidos grasos (oleico, linoléico y linolénico) en la dieta.

Adicionalmente, a los efectos que el tipo de grasa y nivel de inclusión, es importante considerar la edad de las gallinas. Como se evidencia en la Figura 1, se observa efecto de la edad sobre la capacidad de las gallinas a incorporar lípidos a la yema (Cherian, 2008), a las lipoproteínas, en especial las VLDL y pequeñas VLDL ricas en triglicéridos, que son transportadas hasta los folículos ováricos (Walzem *et al.*, 1999).

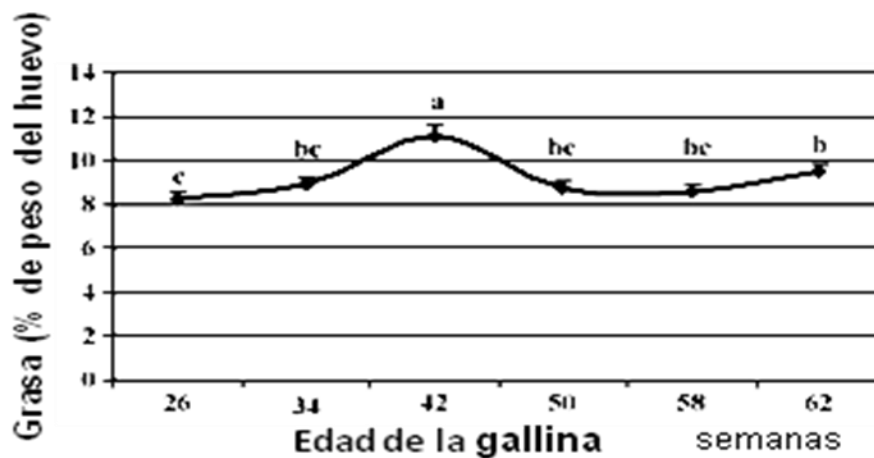


Figura 1. Cambios en el contenido de grasa en los huevos provenientes de gallinas de 26 a 62 semanas de edad (Cherian, 2008).

Otras variable relacionada con la calidad del huevo es el grosor de la cáscara, el cual es afectado cuando las dietas son suplementadas con grasa (Grobas *et al.*, 1999b), Lloyd *et al.* (1978) observó un aumento en la absorción de calcio al reducir los niveles de grasa en la dieta. La grasa en la dieta reduce la absorción de calcio en el tracto gastro-intestinal del ave por lo cual, la disponibilidad de calcio para la formación de la cascara del huevo es menor (Castaldo y Maurice, 1988). Adicionalmente, Brake, 1993 evidenció que la acumulación de grasa en las glándulas del oviducto, lo cual, podría estar asociado con la reducción del grosor de la cáscara.

El color de la yema es otra variable de calidad, que se beneficia con la adición de grasa debido a que se favorece la absorción de los pigmentos carotenoides a nivel intestinal (Karunajeewa *et al.*, 1984; Hamilton y Parkhurst, 1990; Surai *et al.*, 1999). Las gallinas depositan estos pigmentos en la yema para proporcionar protección antioxidante a los polluelos durante la embriogénesis y en el momento de la eclosión, periodos considerados de alto estrés oxidativo. La reducción significativa del color de la yema en gallinas reproductoras de 46 semanas de producción, sugiere que la edad afecta la absorción de estos pigmentos y hace más vulnerable al embrión de pollo durante la incubación y al momento del nacimiento, al estrés oxidativo (Surai y Speake, 1998).

Asimismo, la composición de los lípidos de la yema depende en gran parte de la composición de la dieta, lo cual indica que la composición lipídica de la yema se puede modificar manipulando la alimentación de las gallinas (Mateos, 1991; Nobakht, 2011). Las modificaciones que son posibles realizar en la composición lipídica de la yema, son particularmente en su contenido en ácidos grasos insaturados. Cruickshank (1934) evaluó la influencia de la dieta sobre la composición lipídica de la yema y concluyó lo siguiente: (1) la dieta influye poco en el porcentaje de grasa del huevo; (2) la composición en ácidos grasos de la grasa de la yema es modificable por la dieta y (3) los

ácidos grasos insaturados de la dieta cambian las proporciones de los ácidos grasos presentes en la yema. Se ha demostrado también que el nivel de grasa saturada en la dieta tiene poca influencia sobre la composición de la grasa de la yema (Hargis y Van Elswyk, 1993).

A medida que la gallina consume una dieta con aceite o grasa, el perfil de ácidos grasos del huevo se modifica paulatinamente hasta estabilizarse a los 12-15 días (Ohtake y Hoshino, 1976). Con una dieta baja en lípidos, la mayoría de los ácidos grasos de la yema proceden de la síntesis *de novo*, mientras que con una dieta muy rica en lípidos añadidos (30% aceite de girasol por ejemplo), más del 80% de los ácidos grasos en los triglicéridos de la yema proceden de los ácidos grasos de la dieta (Naber y Biggert, 1989). Los primeros trabajos experimentales que intentaron modificar la composición lipídica del huevo mediante la dieta tenían como objetivo incrementar la relación ácidos grasos polinsaturados / saturados (P/S) del huevo mediante la adición de grasas a la dieta. Estos estudios, alcanzaron parcialmente los objetivos, debido fundamentalmente, a la dificultad de reducir el porcentaje de ácidos grasos saturados independientemente del tipo de grasa añadida. La Tabla 1 muestra que, a pesar de que la relación P/S es 5-10 veces mayor en la dieta con aceite de soja en comparación con las otras fuentes de grasas en las dietas, en la yemas de huevos de las gallinas que consumieron aceite de soja en sus dietas sólo observa incremento de 1,4 a 1,5 veces el valor de P/S.

Tabla 1. Ácidos grasos en la dieta y en la yema del huevo usando diferentes fuentes de lípidos en la dieta

Ácidos Grasos	Aceite soya	Aceite coco	Sebo animal	Aceite pescado	
Dieta					
	_____		%	_____	
Saturados	12,5	54,3	30,5	44,5	
Monoinsaturados	25,9	16,3	24,4	20,1	
Poliinsaturados	61	28,8	33,6	34,8	
Relación P/S	4,96	0,53	1,1	0,78	
Yema					
En la yema					
Saturados	40	42	39,1	40,4	
Monoinsaturados	38	43,6	46	46,1	
Poliinsaturados	22,1	14,5	15,1	13,6	
Relación P/S	0,55	0,35	0,39	0,34	

Grashorn (1995)

Al utilizar dietas con grasas ricas en ácidos grasos saturados de cadena corta (caprílico, C8:0; cáprico, C10:0 y láurico, C12:0) sólo el láurico se deposita en el huevo, y siempre en porcentajes muy bajos (< 2% del total de ácidos grasos). Los ácidos grasos de cadena corta suministrados por la dieta son rápidamente catabolizados o convertidos por la gallina en ácidos grasos de cadena más larga (Sim y Bragg, 1978). En cambio, los ácidos grasos saturados de más de 14 átomos de carbono sí son depositados en la yema. Como ya se ha señalado, niveles elevados de ácidos grasos saturados en la dieta modifican ligeramente el perfil de ácidos grasos del huevo. La Tabla 2 detalla el perfil en ácidos grasos de seis dietas utilizadas para estudiar la composición en ácidos grasos de la yema del huevo. Las modificaciones logradas se muestran en la Tabla 3. Se utilizó una dieta control sin grasa añadida, mientras que en las otras se incorporó 7,5% de sebo, aceite de oliva, aceite de soya, aceite de linaza o aceite de pescado. La incorporación de ácidos grasos monoinsaturados en la dieta (por ejemplo, con aceite de oliva, rico en ácido oleico, C18:1), incrementa el nivel de este

ácido graso en la yema del huevo a expensas, principalmente, de los ácidos grasos palmítico (C16:0), palmitoleico (C16:1) y esteárico (C18:0) (Pankey y Stadelman, 1969; Grobas *et al.*, 1999a). La eficiencia de deposición del oleico en las yemas es menor que la de los ácidos grasos poliinsaturados.

El incremento de los ácidos grasos poliinsaturados de la dieta aumenta la proporción de ácidos grasos insaturados en la yema. El proceso metabólico, mediante el cual los ácidos grasos poliinsaturados de la dieta son transformados y depositados en la yema del huevo, no es todavía bien conocido. Cuando la gallina recibe una dieta rica en ácido γ -linolénico (C18:3 n-3), la yema del huevo no se enriquece en ácido γ -linolénico sino en araquidónico (C20:4 n-6) (Hermier, 1994). Según Watkins (1991), esta respuesta se debe a la rápida elongación del ácido γ -linolénico a ácido dihomo- γ -linolénico (C20:3 n-6) y su posterior desaturación para originar ácido araquidónico.

La incorporación de aceites vegetales ricos en linoléico o en α -linolénico en la dieta de la gallina, aumenta en la concentración de ambos ácidos grasos en la yema del huevo y reduce la concentración de oleico (Cruickshank, 1934; Sell *et al.*, 1968). Según Naber (1979), bajo una amplia gama de condiciones de alimentación la suma de los contenidos de los tres principales ácidos grasos de 18 átomos de carbono (oleico, linoléico y α -linolénico), tiende a ser aproximadamente constante. Summers *et al.* (1966) demostraron, utilizando aceite de cártamo hasta niveles del 20% de la dieta, que el nivel máximo de linoléico depositado en el huevo es inferior al 40%. Estos mismos autores muestran que el nivel máximo de α -linolénico en huevo que se obtiene con una dieta rica en aceite de linaza, es inferior al 15%. No hay una explicación obvia para esta menor incorporación del α -linolénico que de linoléico en la grasa del huevo (Murty y Reiser, 1961). En estos trabajos la concentración de oleico en el huevo disminuyó hasta el 25%.

Tabla 2. Perfil de ácidos grasos (%) de las dietas experimentales F

Ácidos grasos	Control	Sebo	Oliva	Soya	Linaza	Pescado
			%			
C14:0	0,21	2,04	0,06	0,10	0,08	2,70
C14:1		0,93				0,78
C15:0		0,24				
C16:0	14,87	22,02	9,07	10,22	6,42	15,72
C16:1	0,33	3,25	0,63	0,14	0,16	4,45
C17:0		0,72				1,48
C17:1	0,16	0,74	0,13	0,07	0,08	1,33
C18:0	2,42	26,17	3,81	4,34	4,11	4,62
C18:1	18,94	31,80	71,23	20,78	22,96	16,26
C18:2 n-6	55,37	8,51	11,94	54,44	19,46	8,70
C18:3 n-3	4,73	1,24	1,30	8,07	45,41	2,86
C20:0	0,34	0,38	0,47	0,47	0,20	0,50
C20:5 n-3	0,96	0,61	0,34			2,64
C22:0	0,44	0,17	0,19	0,57	0,20	0,28
C22:4 n-6	0,23					0,80
C22:5 n-6						1,01
C22:5 n-3						1,39
C22:6 n-3						19,04
No identificados	0,83	1,17	0,83	0,79	0,92	5,64
Σ saturados	18,28	51,74	13,61	15,72	11,01	25,30
Σ monoinsaturados	20,38	37,34	72,33	20,99	23,21	25,45
Σ poliinsaturados	60,51	9,75	13,23	62,51	64,86	43,61
Σ n-6	55,77	8,51	11,94	54,44	19,46	13,24
Σ n-3	4,73	1,24	1,30	8,07	45,41	30,38
Relación n-6:n-3	11,78	6,84	9,19	6,75	0,43	0,44

(Grobas *et al.*, 2001)

Tabla 3. Efecto del tipo de dieta sobre la composición en ácidos grasos de la yema del huevo

Ácidos grasos	CO	SE	OL	%			
				SO	LI	PE	ES ²
C14:0	0,30 ^b	0,55 ^a	0,20 ^b	0,21 ^b	0,21 ^b	,55 ^a	0,03
C14:1	0,21 ^b	0,56 ^a	0,15 ^b	0,18 ^b	0,17 ^b	0,55 ^a	0,04
C15:0	23,47 ^{ab}	22,11 ^b	19,06 ^c	20,11 ^c	18,37 ^c	24,58 ^a	0,56
C16:0	4,27 ^b	5,18 ^a	3,09 ^c	2,45 ^d	2,94 ^{cd}	4,42 ^b	0,19
C16:1	0,21 ^c	0,78 ^b	0,23 ^c	0,28 ^c	0,21 ^c	0,97 ^a	0,05
C17:0	8,83 ^{bc}	8,91 ^{bc}	7,44 ^d	9,70 ^{ab}	10,35 ^a	8,70 ^c	0,27
C17:1	47,99 ^b	49,42 ^b	57,35 ^a	35,31 ^d	40,73 ^c	39,99 ^c	0,72
C18:0	9,16 ^c	7,50 ^d	7,26 ^a	24,86 ^d	11,83 ^b	7,84 ^{cd}	0,40
C18:1	0,37 ^c	0,35 ^c	0,35 ^c	1,80 ^b	10,88 ^a	0,80 ^c	0,17
C18:2 n-6	0,10 ^b	0,07 ^{cd}	0,08 ^{bc}	0,13 ^a	0,13 ^a	0,06 ^{cd}	0,01
C18:3 n-3	0,40 ^c	0,93 ^a	0,48 ^c	0,28 ^d	0,26 ^d	0,63 ^b	0,01
C20:0	1,80 ^a	1,39 ^b	1,84 ^a	1,93 ^a	0,97 ^c	0,71 ^d	0,07
C20:5 n-3	Nd ³	Nd	Nd	Nd	0,28 ^a	0,77 ^b	0,02
C22:0	0,14 ^b	0,13 ^b	0,12 ^b	0,19 ^a	0,14 ^b	0,08 ^c	0,01
C22:5 n-6	0,42 ^a	0,24 ^b	0,36 ^a	0,13 ^c	Nd	0,18 ^{bc}	0,02
C22:5 n-3	0,12 ^{cd}	0,11 ^d	0,10 ^d	0,21 ^c	0,41 ^b	0,69 ^a	0,03
C22:6 n-3	0,84 ^d	1,05 ^{cd}	0,91 ^d	1,43 ^{bc}	1,65 ^b	6,94 ^a	0,13
Σ saturados	32,83 ^{ab}	31,77 ^{bc}	26,90 ^e	30,34 ^{cd}	29,19 ^d	33,96 ^a	0,50
Σ monoinsaturados	53,08 ^c	56,86 ^b	61,31 ^a	38,48 ^e	44,30 ^d	46,56 ^d	0,68
Σ poliinsaturados	12,88 ^d	10,73 ^e	10,96 ^e	30,54 ^a	26,07 ^b	18,06 ^c	0,54
Σ n-6	11,55 ^b	9,23 ^c	9,60 ^c	27,10 ^a	12,85 ^b	8,86 ^c	0,42
Σ n-3	1,33 ^d	1,50 ^d	1,35 ^d	3,44 ^c	13,22 ^a	9,21 ^b	0,21
Relación n-6:n-3	8,84 ^a	6,37 ^c	7,42 ^{bc}	7,92 ^{ab}	0,97 ^d	0,97 ^d	0,32

^{a,b,c,d,e}Medias dentro de la misma fila con distinta letra difieren significativamente ($p < 0,05$).

CO = control sin grasa añadida; SE = 7,5% sebo; OL = 7,5% aceite de oliva; SO = 7,5%, aceite de soya; LI = 7,5% aceite de linaza; PE = 7,5% aceite de pescado.

²Error estándar de las medias ($n = 16$).

³No detectado. (Grobas *et al.*, 2001)

La tasa de incorporación de un ácido graso insaturado en el huevo disminuye cuando se incorpora grasa saturada a la dieta. Murty y Reiser (1961) comprobaron que al adicionar sebo a varias dietas experimentales, con cantidades constantes de linoléico y alfa-linolénico, disminuían los niveles de estos ácidos grasos en el huevo. El nivel de linoléico en el huevo pasó de 24% a 11% cuando a la dieta se le adicionó más de 5% de sebo.

La inclusión en la dieta de ácidos grasos poliinsaturados de cadena muy larga (C20 y C22) también incrementa el contenido de estos ácidos grasos en la yema del huevo, tal como sucede al incorporar aceites de pescado a la dieta. Estos ácidos grasos también aumentan si la dieta es rica en alguno de sus precursores (Jiang *et al.*, 1992). Así, niveles elevados de ácido linoléico van acompañados por incrementos en ácido araquidónico. La ingestión de ácido α -linolénico incrementa los niveles de ácido docosahexaenoico (DHA; C22:6) y eicosapentaenoico (EPA; C20:5). Grobas *et al.* (1999c), utilizando aceite de soya y aceite de linaza observaron interacciones entre los ácidos grasos de la familia n-3, representados por el α -linolénico y los de la familia n-6 representados por el linoléico. Ambas familias utilizan el mismo sistema enzimático en sus procesos de elongación y desaturación por lo cual un exceso de linoléico, induce un predominio de la actividad de las enzimas que sintetizan ácido araquidónico, limitando así la conversión de α -linolénico a EPA y DHA. Por el contrario, concentraciones elevadas de α -linolénico actúan en sentido contrario incrementado los niveles de EPA y DHA en la yema y reduciendo el nivel de ácido araquidónico (Raes *et al.*, 2002).

Por otra parte, hay distintos ácidos grasos transportados a la yema que no se incorporan de forma uniforme en los distintos tipos de lípidos de la yema. Jiang *et al.* (1992) y Cherian y Sim (1992) indican que los ácidos grasos de cadena larga pertenecientes a la familia n-3 se depositan exclusivamente en los fosfolípidos y, preferentemente, en la fracción

fosfatidiletanolamina. El incremento de ácido oleico y de α -linolénico en la yema se centró principalmente en los triglicéridos. La incorporación de linoléico se distribuyó tanto entre los triglicéridos como entre la fracción de fosfatidilcolina de los fosfolípidos de la yema.

Los ácidos grasos de cadena impar no son sintetizados por las aves, por lo que su aparición en la yema se debe a su presencia en la dieta. Esto sucede principalmente al utilizar grasa bovina, como por ejemplo el sebo (Grobas *et al.*, 1999c).

En Estados Unidos alrededor del 95% de la "grasa animal" procedente de restaurantes, se utiliza en alimentación animal. Esta grasa contiene isómeros *trans* tales como el ácido elaídico (C18:1 t9). Estos ácidos grasos *trans* parecen tener efectos similares a los de los ácidos grasos saturados sobre el nivel de colesterol en la sangre (González *et al.*, 2009). Además, pueden afectar el metabolismo de los ácidos grasos esenciales bajo ciertas condiciones. Parece por ello importante analizar el comportamiento de estos ácidos grasos en la gallina y la posible deposición en el huevo por las implicaciones que podrían tener en relación con la salud humana.

Lanser *et al.* (1978), estudiaron el metabolismo del ácido linoléico y el linoleidato (isómero *trans* del ácido linoléico) y observaron que, aunque ambos isómeros se digerían bien, el ácido araquidónico encontrado en los fosfolípidos de la yema del huevo, se derivaba exclusivamente del linoléico. El linoleidato se encontró tanto en los triglicéridos como en los fosfolípidos de la yema. En otro trabajo, Lanser y Emken (1987), comprobaron cómo uno de los isómeros *trans* del oleico (C18:1 t10), se incorporaba en la grasa del huevo al ser añadido a la dieta, aunque de forma menos eficiente que el oleico.

Una excepción a lo anteriormente mencionado, lo constituye el aceite de algodón, que incrementa la saturación del huevo a pesar de su alto contenido en ácidos grasos insaturados. Reid *et al.* (1987) y Evans *et al.*

(1977) observaron que podían llegar a niveles de saturación del huevo, de hasta un 40-45 % como consecuencia, básicamente, de un incremento en el porcentaje de ácido esteárico. La razón se encuentra en el contenido en ácidos grasos ciclopropenoides, malválico y estercúlico, del aceite de algodón. El modo de acción de estos ácidos grasos ciclopropenoides ha sido vinculado al metabolismo de los ácidos grasos, aunque el mecanismo preciso todavía no ha sido dilucidado (Wiseman, 1986). Según Panigrahi y Hammonds (1990), el efecto es causado por la inhibición de la enzima Δ^9 -desaturasa, lo que hace aumentar las relaciones esteárico/oleico, palmítico/palmitoleico y heptadecanoico/heptadecenoico.

Numerosos estudios clínicos y epidemiológicos, entre los que se encuentra el ya clásico realizado por Bang *et al.* (1976) con esquimales de Groenlandia, indican que la ingestión de ciertos ácidos grasos poliinsaturados pertenecientes a la familia n-3, abundantes en la grasa del pescado azul, podrían tener efectos beneficiosos sobre la salud por sus propiedades antitrombóticas y antiinflamatorias (Harris, 1989). Dentro de la familia de los ácidos grasos n-3, cuyo prototipo es el ácido α -linolénico, los más interesantes son el EPA y el DHA. Otros trabajos destacan el papel esencial de estos ácidos grasos en las primeras edades de la vida, por su importancia en el desarrollo del cerebro, del sistema visual y en la vejez. Estos efectos han sido asociados a la escasa capacidad de los humanos a estas edades para transformar el ácido α -linolénico en EPA y DHA.

La incorporación de estos ácidos grasos n-3 en el huevo ha sido demostrada, por lo cual, existe un potencial para mejorar el valor nutricional del huevo (Hargis *et al.*, 1991). La adición de aceites de pescado ricos en EPA y DHA en las dietas de ponedoras aumentaría el enriquecimiento de estos ácidos grasos en los huevos. Van Elswyk *et al.* (1991) observaron que un 3% de aceite de pescado en la dieta incrementó el contenido de EPA y DHA en los huevos de las gallinas que recibieron esta dieta. Sin embargo, el

tamaño del huevo disminuyó significativamente y la infiltración de lípidos en el hígado de las gallinas aumentó.

Debido a la tendencia a la oxidación de los aceites de pescado, por su riqueza en estos ácidos grasos poliinsaturados y al sabor indeseable que le imparten a los productos avícolas cuando se incorporan en cantidades elevadas, se han evaluado fuentes vegetales terrestres ricas en ácidos grasos n-3 tales como la soya, la linaza o la colza. Los trabajos realizados por Caston y Leeson (1990) con linaza, así como los de Cherian y Sim (1992) con colza, demuestran que es posible enriquecer los huevos en ácidos grasos n-3 utilizando estas materias primas, pero que la principal modificación se observa en el contenido en α -linolénico, mientras que los niveles de EPA y DHA aumentan muy poco. Esto indica la pobre eficiencia de conversión del α -linolénico a EPA y DHA en las aves. Respecto de la presencia de sabores indeseables en los huevos, Cruickshank (1934) trabajando con aceite de linaza al 28% y más recientemente Jiang *et al.* (1992) incorporando linaza en la dieta al 15%, demostraron la presencia de estos sabores desagradables en los huevos. Estas observaciones descartan la hipótesis de que el sabor desagradable esté exclusivamente asociado a los productos derivados del pescado. Para tratar de reducir los sabores desagradables y al mismo tiempo mejorar la estabilidad oxidativa de estos ácidos grasos en la yema, se ha utilizado la adición de antioxidantes como el etoxiquín o la vitamina E en la dieta (Kirunda *et al.*, 2001). Otra posibilidad de enriquecer los huevos con ácidos grasos n-3 es utilizar algas ricas en DHA (Herber-Mcneill y Van Elswyk, 1998).

Una consideración importante a tener en cuenta a la hora de decidir si se utiliza pescado (aceite o harina), una fuente vegetal terrestre (semillas o aceites) o algas marinas para enriquecer los huevos en ácidos grasos n-3, está referida al posterior metabolismo de estos ácidos grasos en los vertebrados, debido a la baja eficiencia de transformación de α -linolénico a

EPA y DHA. No todos los n-3 de la dieta son biológicamente equivalentes y existe una clara evidencia de los efectos beneficiosos para la salud humana del ácido α -linolénico. Por ello, es importante considerar no sólo el total de ácidos grasos de la familia n-3 sino también los ácidos grasos específicos de esta familia (Nettleton, 1991). Hay que considerar que la modificación de los ácidos grasos de la dieta provoca alteraciones de la composición de los ácidos grasos que conforman los lípidos de los tejidos y pueden inducir cambios en la respuesta celular.

2.2. Efectos de los lípidos sobre la respuesta inmune en aves

Hoy día se reconoce que las grasas no sólo constituyen una fuente importante de energía en la dieta, sino que además se les ha atribuido funciones importantes sobre la respuesta inmune celular y humoral (Johnston, 1985; 1988). Las alteraciones en la composición de los lípidos de la dieta pueden afectar los ácidos grasos de membrana de las diferentes células del cuerpo, incluyendo las células del sistema inmune (Peterson *et al.*, 1998; Field *et al.*, 2000). Dado que los ácidos grasos dietéticos son incorporados en la membrana plasmática, la composición de los lípidos de la estructura celular refleja la composición de los lípidos de la dieta (Clamp *et al.*, 1997) y por tanto los fosfolípidos asociados con la membrana plasmática de los linfocitos, monocitos/macrófagos o células polimorfonucleares pueden ser alteradas por los lípidos de la dieta (Clamp *et al.*, 1997).

La mayoría de los estudios han evaluado los ácidos grasos poliinsaturados (PUFAs) que incluyen la familia de los n-3 y los n-6. Estos ácidos grasos son metabolizados *in vivo*, vía síntesis de eicosanoides, tales como las prostaglandinas, prostaciclina y tromboxanos, la producción de estos compuestos puede ser afectada a través de la modificación de la actividad de las enzimas que intervienen en sus síntesis (Clamp *et al.*, 1997).

El ácido linoléico es el precursor de la familia de los n-6 y se encuentra comúnmente en aceites vegetales, incluyendo el aceite de maíz y el aceite

de soya (Johnson *et al.*, 2001). En los tejidos animales, el ácido linoléico es convertido a ácido araquidónico, el cual representa aproximadamente el 25% del total de ácidos grasos en las membranas plasmáticas de las células del sistema inmune (Johnson *et al.*, 2001). La cantidad de ácido araquidónico presente en la membrana plasmática es importante desde el punto de vista inmunológico, ya que este es el precursor de varias prostaglandinas y leucotrienos, que tienen efectos proinflamatorios (Garret y Grisham, 1998).

El precursor de los PUFAs de la familia n-3 es el ácido α -linolénico el cual es convertido en los ácidos eicosanpentanoico y docosahexanóico en los tejidos animales y tienen efectos antiinflamatorios (Garret y Grisham, 1998; Drackley, 2000, Johnson *et al.*, 2001) antagónicos a los del ácido araquidónico (Calder y Grimble, 2002). Debido a que estos ácidos grasos (linoléico y linolénico) no pueden ser sintetizados a partir de otras familias, ellos son definidos como ácidos grasos esenciales (Moran *et al.*, 1994) y compiten por los procesos de elongación y desaturación, por lo cual una cantidad excesiva de uno de ellos en la dieta, producirá una reducción en los productos de elongación y desaturación del otro que será incorporado a los fosfolípidos de la membrana (Drackley, 2000). Este mecanismo permitiría la manipulación de la composición de la membrana celular a través de la incorporación de un determinado tipo de grasa o aceite en la dieta, si así se estimase apropiado.

El ácido α -linolénico se incorpora en las membranas celulares mejorando su flexibilidad y podría prevenir problemas metabólicos e inflamatorios comunes en aves de rápido crecimiento. También ejerce un efecto positivo sobre los niveles de anticuerpos maternos, lo que podría aumentar la productividad de la progenie (Ajuyah *et al.*, 2003; Wang *et al.*, 2004; Cherian, 2007). Se ha demostrado que el ácido α -linolénico estimula la unión de la IgY con su receptor en la membrana del saco vitelino,

incrementando la transferencia maternal embrionaria de anticuerpos maternos (Wang *et al.*, 2000; Wang, 2001).

La relación entre las fuentes lipídicas de la dieta y el sistema inmune, ha sido motivo de discusión en los últimos años (Calder, 1998a; Calder, 1998b; Al-Othman, 2000; De Pablo y Alvarez, 2000, Calder, 2001; Calder y Grimble, 2002; Wu, 2004; Wang *et al.*, 2004). Las dietas con alto contenido de lípidos reducen la proliferación de linfocitos estimulada por mitógenos *in vitro*; al contrario de lo que ocurre con una dieta con bajo contenido de lípidos, aunque la respuesta específica depende del tipo y cantidad de la grasa utilizada (Calder, 1998a;b). La mayoría de los estudios realizados han enfocado su atención en determinar los efectos de los PUFA (n-3) sobre el sistema inmune en aves (Fristche *et al.*, 1991a; b;) y cerdos (Fristche *et al.*, 1993b; Kastel *et al.*, 1999; Thies *et al.*, 1999; Revajova *et al.*, 2001; Liu *et al.*, 2003). Los resultados obtenidos hasta ahora, indican que los animales con un sistema inmune alterado son más sensibles a infecciones bacterianas, que aquellos en los que los PUFAs están incorporados a la dieta (Thies *et al.*, 1999; Wu, 2004), ya que reducen la capacidad de los fagocitos para atacar las bacterias y la de algunos linfocitos para responder a la señal generada por la presencia de mitógenos (Thies *et al.*, 1999). Sin embargo, es importante considerar que esa sensibilidad también estará determinada por las variaciones genéticas, el estado de salud general, el estado de la respuesta inmune, el tipo de estimulación y, posiblemente, la edad (Wu, 2004).

En mamíferos, las prostaglandinas inhiben la respuesta inmunológica, a través de la disminución de la producción de linfocitos (Goodwin y Messner, 1979), anticuerpos (Plescica *et al.*, 1975) y linfoquinas (Chouaib *et al.*, 1985). En aves, estos efectos han sido observados al adicionar ácidos grasos n-3 a las dietas (Fristche y Cassity, 1992), y se ha demostrado que la

inclusión de 7% de aceite de pescado reduce la producción de inmunoglobulinas (Raes *et al.*, 2002),

En los pollos recién nacidos, la protección de su salud proviene de las inmunoglobulinas transferidas por la gallina a través de la sangre, al epitelio folicular y acumuladas en las yemas durante la ovogénesis (Rose y Orleans, 1981). La inmunoglobulina en mayor concentración es conocida como IgY (Leslie y Clem, 1969). La IgY es absorbida por el embrión durante su desarrollo embrionario y, posteriormente a la incubación, se mantiene hasta los dos días de edad del pollito (Li *et al.*, 1998). Tanto la producción de inmunoglobulinas como la composición lipídica de los tejidos del sistema inmune van a estar influidos por la fuente de grasa o aceite que se utilice en la dieta (Fritsche *et al.*, 1991a).

2.3. Efectos de los lípidos sobre el desarrollo embrionario de las aves

En las aves, en particular, los lípidos tiene un papel importante ya que éstos aportan el 90% de los requerimientos energéticos desde el desarrollo embrionario, principalmente a través de su oxidación (Romanoff, 1960). La composición de los ácidos grasos de la yema tiende a variar durante el proceso de incubación (Noble y Cocchi, 1990), al ocurrir una disminución del contenido de fosfolípidos que contienen altas concentraciones de ácidos grasos esteárico y docosahexanóico, y un aumento en la concentración de los ácidos oleico y palmítico. La composición de la dieta de la gallina reproductora puede influir en la composición de los lípidos de la yema (Cherian y Sim, 1993), lo cual, a su vez, influye en el metabolismo de los ácidos grasos en el embrión.

Los ácidos grasos de cadena media (C6:0 a C14:0) son fácilmente metabolizados, a diferencia de los de cadena larga los cuales dependen de un transportador específico, la carnitina, para ser incorporados a la mitocondria hepática (Babayán, 1987). Adicionalmente, los ácidos grasos de

cadena corta pueden ser agregados a las dietas de forma purificada o a través de triglicéridos que contienen alto porcentaje de ácidos grasos de cadena corta (45% C8:0, 20% C10:0). Sin embargo, la disponibilidad de las grasas y sus costos al momento de formular las dietas para las aves, conlleva a tomar en cuenta la capacidad que tienen las gallinas para depositar los lípidos de la dieta, directamente en la formación de la yema (Coston y Leeson, 1990; Aymond y Van Elswyk, 1995), manipulando así la dieta para aumentar el contenido de ácidos grasos polinsaturados en la misma.

Varios estudios han mostrado que el ácido graso depositado preferencialmente en la yema de los huevos, es el ácido linolénico (Aymond y Van Elswyk, 1995; Scheideler y Froning, 1996). Los huevos con alto contenido de ácido linolénico (C18:3 n-3) enriquecen los tejidos del pollito con metabolitos de cadena larga de ácido linolénico, como el ácido eicosapentaenoico (C20:5 n-3), docosapentaenoico (C22:5 n-3), y docohexaenoico (C:22:6 n-3), con una reducción del ácido araquidónico (C20:4 n-6) (Cherian y Sim, 1992). El conjugado de ácido linoléico encontrado en altas concentraciones en productos principalmente de origen bovino (Chin *et al.*, 1992) y en el aceite de pescado y linaza (Raes *et al.*, 2002), tiene un amplio efecto biológico y, específicamente, inhibe la actividad de la enzima desaturasa la cual tiene una importante función en la utilización de los lípidos durante el desarrollo embrionario y en los pollos en crecimiento (Ahn *et al.*, 1999; Latour *et al.*, 2000), además de generar modificaciones en la composición de los lípidos e inducen efectos drásticos sobre la sobrevivencia del embrión (Aydin *et al.*, 2001). Adicionalmente, a estas se conoce que los ácidos grasos precursores de eicosanoides como son las prostaglandinas y los leucotrienos, son reconocidos por su importante papel en la modulación de la respuesta humoral y celular del sistema inmune (Grimble, 1998).

2.4. Efectos de la dieta sobre la actividad cardiaca

En comparación con otras especies animales, las aves presentan una mayor incidencia de afecciones cardíacas, producto de su velocidad de crecimiento y las altas conversiones alimenticias, asociadas a la selección genética (Julian, 1993; Wideman y Bottje, 1993; Olkowski y Classen, 1995; Martínez *et al.*, 1997). Es común observar problemas de arritmias cardíacas en pollos sometidos a situaciones de estrés, que pueden evidenciarse desde los 7 días de edad y aumentar su incidencia con la edad (Olkowski, 2007). En general, se ha observado mayor incidencia de fallas cardíacas en pollos de engorde que en gallinas ponedoras (Martínez *et al.*, 1998).

En humanos el tipo de grasa y el consumo de otras sustancias, como flavonoides y vitaminas antioxidantes, constituyen novedosos factores dietéticos relevantes en la incidencia de enfermedad coronaria. Las aves representan un modelo animal adecuado para el estudio de los efectos de dietas con altos contenidos de lípidos sobre el funcionamiento cardiovascular. En 1949, Horlick y Katz seleccionaron los pollos que presentaban arterioesclerosis espontáneamente. En 1974, Ho *et al.* describen la existencia de gallinas con hiperlipemia hereditaria. En 1983, Simpson y Harms publican la existencia de síndrome de hígado graso en gallinas hipercolesterolémicas, incapaces de poner huevos. En las necropsias se observaron grandes depósitos grasos en hígado e involución de los huevos con ausencia de yema. En 1995, Bujo *et al.* demostraron la presencia de una mutación espontánea en el grupo de genes de los receptores LDL en gallinas que presentaban el síndrome hepático graso. Se describe una mutación natural en los receptores VLDL dando fenotipo anormal con ausencia de ovulación, hipercolesterolemia y arteriosclerosis precoz y severa

Actualmente, se cuenta con técnicas ecocardiográficas no invasivas que permiten evaluar la función cardíaca en animales vivos, y determinar el

tamaño del corazón, las dimensiones de los ventrículos y la función sistólica (Devereux y Reycheck, 1977; Devereux *et al.*, 1986; Voros *et al.*, 1990; Pawlusch *et al.*, 1993). Hay diversas modalidades que permiten evaluar la disfunción cardíaca y pulmonar (Kitabatake *et al.*, 1983; Masuyama *et al.*, 1986). En la primeras aves que se utilizó esta técnica fue en pavos por Einzig *et al.* (1980), y en virtud de la incidencias de cardiomiopatías en pollos de engorde, Martínez *et al.* (1998) realizó un estudio para validar la ecocardiografía en este tipo de aves y observaron altas correlaciones ($r=0,70$; $p<0,01$) entre los datos ecocardiográficos in vivo y las mediciones manuales postmortem realizadas en tales pollos.

Se han reportado dos factores ligados al síndrome de muerte súbita en pollos de engorde: uno es el defecto del sistema retículo-sarcoplásmico para el transporte de calcio en el corazón y el segundo corresponde a tipo de grasas utilizadas en la elaboración de las dietas (Hulan *et al.*, 1980). En el síndrome de muerte súbita, aves alimentadas con grasas saturadas como el sebo bovino presentaron mayor incidencia de esta enfermedad por las fallas cardíacas que las aves alimentadas con aceite de girasol (Cherian, 2007).

Como se ha señalado el ácido linoléico (18:2 n-6) y el linolénico (18:3 n-3) son precursores de los ácidos araquidónico y eicosapentanoico respectivamente, los cuales a su vez son substratos de las enzimas ciclooxigenasas y lipooxigenasas para la síntesis de eicosanoides, por lo cual un disturbio en su síntesis puede inducir enfermedades cardíacas y muerte súbita en las aves de rápido crecimiento (Saki y Hemati, 2011). La composición del tejido cardíaco en pollos recién eclosionados, está en relación con la composición de los lípidos de la yema, por lo cual, un ajuste en las dietas de las gallinas reproductoras puede reducir la predisposición de fallas cardíacas en su descendencia (Ajuyah *et al.*, 2003).

2.5. Metabolismo de los Lípidos en las Aves

2.5.1. Digestión, absorción y transporte de las grasas en aves

En las aves, el proceso de digestión y absorción de los lípidos de la dieta, es similar a los mamíferos aunque existen diferencias en cuanto a la formación de la grasa micelar (Osorio y Flórez, 2011). En el intestino de las aves, el principal componente de las micelas de las grasas son los monoglicéridos y los ácidos grasos libres, los cuales son absorbidos por las células epiteliales del intestino delgado (Bell y Freeman, 1971).

En los mamíferos, la grasa ingerida debe ser emulsionada en el estómago para permitir la acción de las lipasas pancreáticas y la formación de las micelas en el contenido acuoso del intestino. Entre las sustancias emulsionantes que favorecen este proceso, se encuentran los monoglicéridos, obtenidos de la hidrólisis gástrica de las grasas, mediada por la lipasa gástrica, que hidroliza aproximadamente un 30% de los lípidos de la dieta (Leeson y Summers, 2001). Una emulsión defectuosa de la grasa en el estómago reduciría la absorción de lípidos en el intestino. Las aves, por su parte, presentan muy baja actividad lipolítica en el proventrículo, por lo que la óptima emulsión de la grasa requerida para la posterior formación de micelas y absorción intestinal de los lípidos parece llevarse a cabo como consecuencia del reflejo entero-gástrico, el cual permite que el contenido intestinal retorne a la molleja y al proventrículo (Sturkie, 1986). Mediante este mecanismo, parte de los triglicéridos hidrolizados en el duodeno vuelven nuevamente a la molleja, junto a las sales biliares, para la emulsión de la grasa (Place, 1996). Esta grasa emulsionada está formada por pequeños agregados esféricos de 200 a 5.000 nm de diámetro, constituidos por lípidos polares (fosfolípidos, glicolípidos y monoglicéridos). La característica anfotérica de estos lípidos permite la formación de una monocapa en la interfase óleo-acuosa, dirigiendo su extremo polar hacia el agua y su extremo apolar hacia el resto de sustancias lipídicas. Estos agregados engloban los

lípidos menos polares (triglicéridos, esteroides, vitaminas liposolubles) y los totalmente apolares (como las ceras, ésteres de vitaminas o de esteroides). Las sales biliares entran en contacto con la grasa emulsionada disolviendo algunos de sus constituyentes y proporcionándole carga negativa. Es de vital importancia que las sales biliares se mantengan en solución al pH de la molleja. Para ello se forman conjugados de las sales biliares con la taurina que permiten su disolución incluso a niveles de pH inferiores a 1 (Leeson y Summers, 2001).

En el duodeno, la carga negativa proporcionada por las sales biliares atrae a la colipasa, cuya función es la de mantener la lipasa pancreática cerca del glóbulo de grasa para permitir su acción. La lipasa pancreática hidroliza preferentemente los ácidos grasos situados en los carbonos 1 y 3 del triglicérido, dando lugar a 2-monoacilglicerolos y ácidos grasos libres, con carácter más polar (Figura 2), formándose así partículas más pequeñas denominadas micelas cuyo diámetro aproximado es de 3-10 nm (Leeson y Summers, 2001).

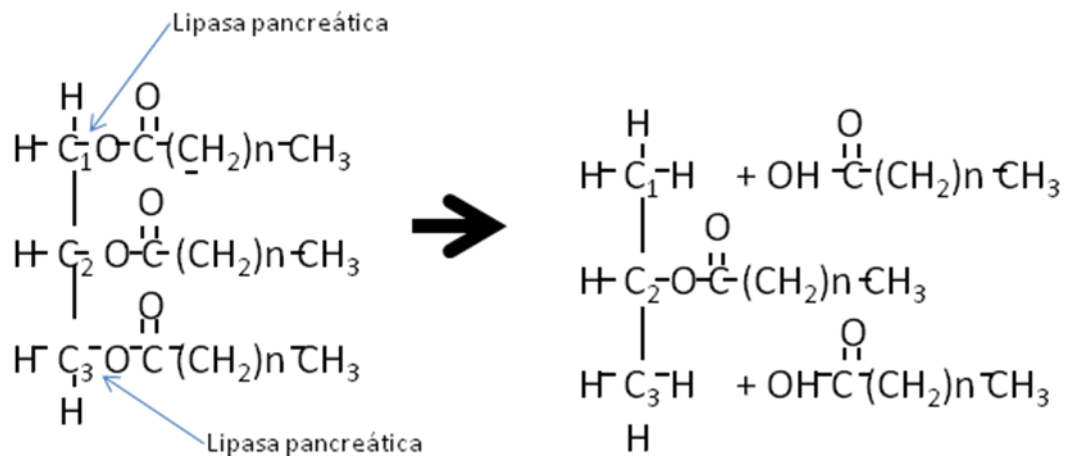


Figura 2. Acción de la lipasa pancreática (Lehninger, 1988)

Otras enzimas pancreáticas involucradas en la digestión de los lípidos son las fosfolipasas A1 y A2 y la carboxil-ester-hidrolasa. Dichas enzimas

catalizan la hidrólisis de los fosfolípidos (originando ácidos grasos libres y lisofosfolípidos) y diferentes ésteres de ácidos grasos, como el colesterol (Osorio y Flórez, 2011). Los derivados lipídicos más polares pasan a la fase acuosa del intestino y entran a formar parte de las micelas, junto con las sales biliares, englobando a otros lípidos no polares. El carácter hidrofílico de las micelas les permite atravesar la capa acuosa adyacente a la membrana celular y entrar en contacto con la membrana del enterocito para la absorción de los lípidos (Lehninger, 1988). En el enterocito, los monoglicéridos y los ácidos grasos libres son re-esterificados y combinados con el colesterol esterificado, lipoproteína y fosfolípidos formando los llamados portomicrones (Leeson y Summers, 2001; Osorio y Flórez, 2011).

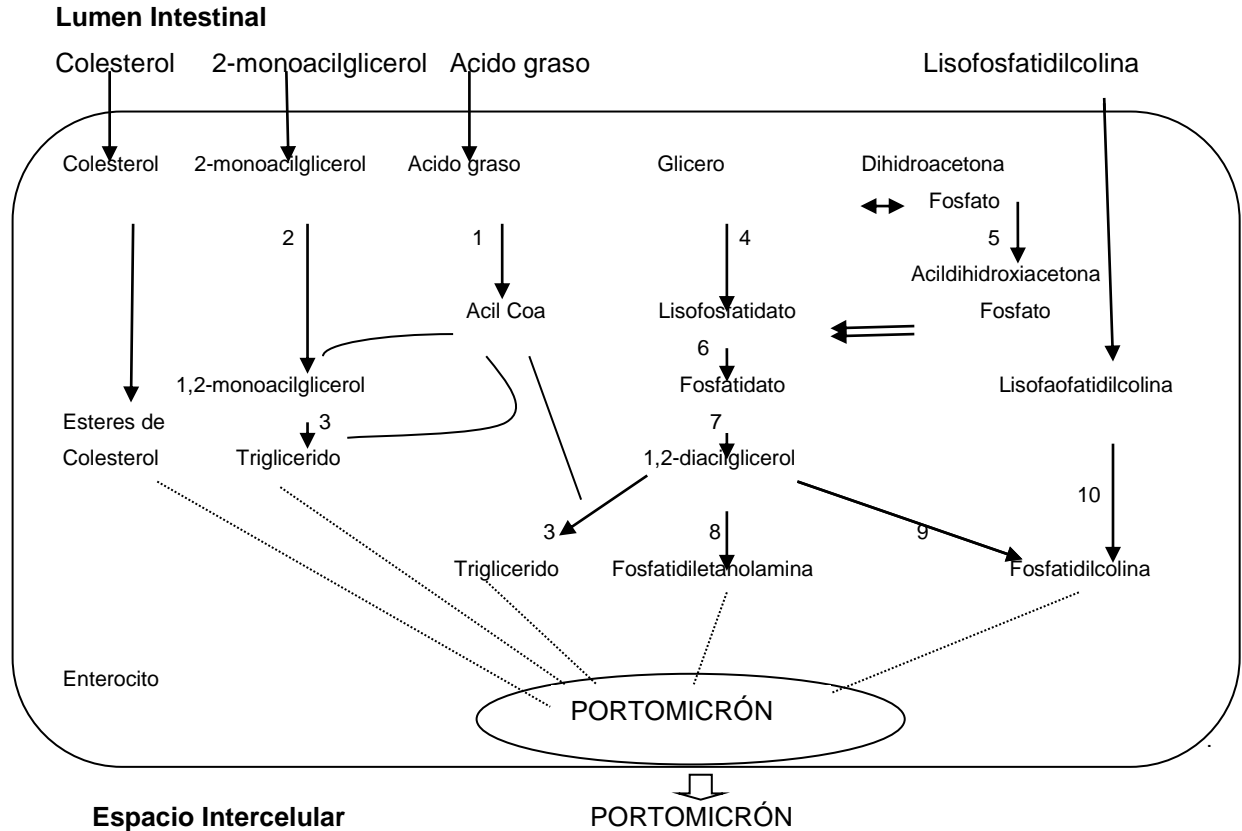
El caso de las aves, la reesterificación de los ácidos grasos absorbidos no es total y hasta un 50% puede pasar directamente a la sangre y ser transportados por la albúmina (Griffin y Hermier, 1988).

El transporte de los lípidos a través de la membrana de la célula intestinal se realiza mediante un proceso de difusión pasiva, principalmente en el yeyuno. Según la absorción de las grasas puede ser influida por:

1. Ácidos grasos libres o monoglicéridos: Tras la hidrólisis del triacilglicerol (TG) se liberan ácidos grasos libres (AGL) y monoglicéridos. Debido a los dos grupos hidroxilos de los monoglicéridos su grado de polaridad es mayor que el de los AGL, lo cual favorece su absorción (Bell y Freeman, 1971).
2. Grado de insaturación de los ácidos grasos: Las proteínas transportadoras de ácidos grasos tienen mayor afinidad por los ácidos grasos poliinsaturados (AGPI) y éstos, además, tienen mayor capacidad para formar las micelas, por lo que su grado de absorción es mayor respecto de los ácidos grasos saturados (AGS) (Lehninger, 1988).

3. Longitud de cadena: a menor longitud de cadena del ácido graso, mayor polaridad con relación al tamaño de la molécula, y por tanto, mayor capacidad de interacción con el medio acuoso. De hecho, los ácidos grasos de cadena media y corta no necesitan estar incorporados en las micelas para ser absorbidos, ni necesitan proteínas transportadoras citosólicas o lipoproteínas plasmáticas, ya que son transportados unidos a la albúmina (Lenhinger, 1988).
4. Interacciones: La combinación de AGPI y AGS mejora la absorción de los últimos, así, al incorporar un 2% de aceite de soya (u otro AGPI) sobre el total de grasa de la dieta, mejora la energía metabolizable del sebo. Esta respuesta se maximiza a partir de un 3% de inclusión de grasa en la dieta (Sibbald, 1978). La mayor facilidad de los AGPI para formar micelas mejora también la incorporación de los AGS a éstas, facilitando su absorción. Este sinergismo, ha permitido el establecimiento de ecuaciones predicivas que relacionan el grado de insaturación con la digestibilidad y el contenido de energía metabolizable de la dieta (Ketels y Groote, 1989; Wiseman *et al.*, 1991). Un mecanismo similar se produce al combinar monoglicéridos con AGL (Sklan, 1979).

Dentro de la célula intestinal se vuelven a formar los triglicéridos, fosfolípidos y ésteres de colesterol que serán integrados en los portomicrones (PM) para su paso a la circulación portal (Figura 3).



- | | |
|--|---|
| 1-Acil-Coa sintetasa | 6-Lisofosfatidato aciltransferasa |
| 2-Monoacilglicerol aciltransferasa | 7- Fosfatidato fosfohidrolasa |
| 3.-Diacilglicerol aciltransferasa | 8-Etanolamina Fosfotransferasa |
| 4-Glicerol fosfato aciltransferasa | 9-Colina fosfotransferasa |
| 5-Dihidroxiacetona fosfato aciltransferasa | 10-Lisofosfatidilcolina aciltransferasa |
- (Brindley, 1984).

Figura 3. Síntesis de lípidos en el enterocito y formación de portomicrones en aves

En los mamíferos, los quilomicrones son secretados al torrente linfático y pasan a la circulación periférica por vía del conducto torácico. Sin embargo, en las aves el sistema linfático intestinal del pollo está menos desarrollado y difiere en su estructura. Noyan *et al.* (1964), sugieren que los lípidos en las aves son absorbidos por la vía del sistema venoso portal en la

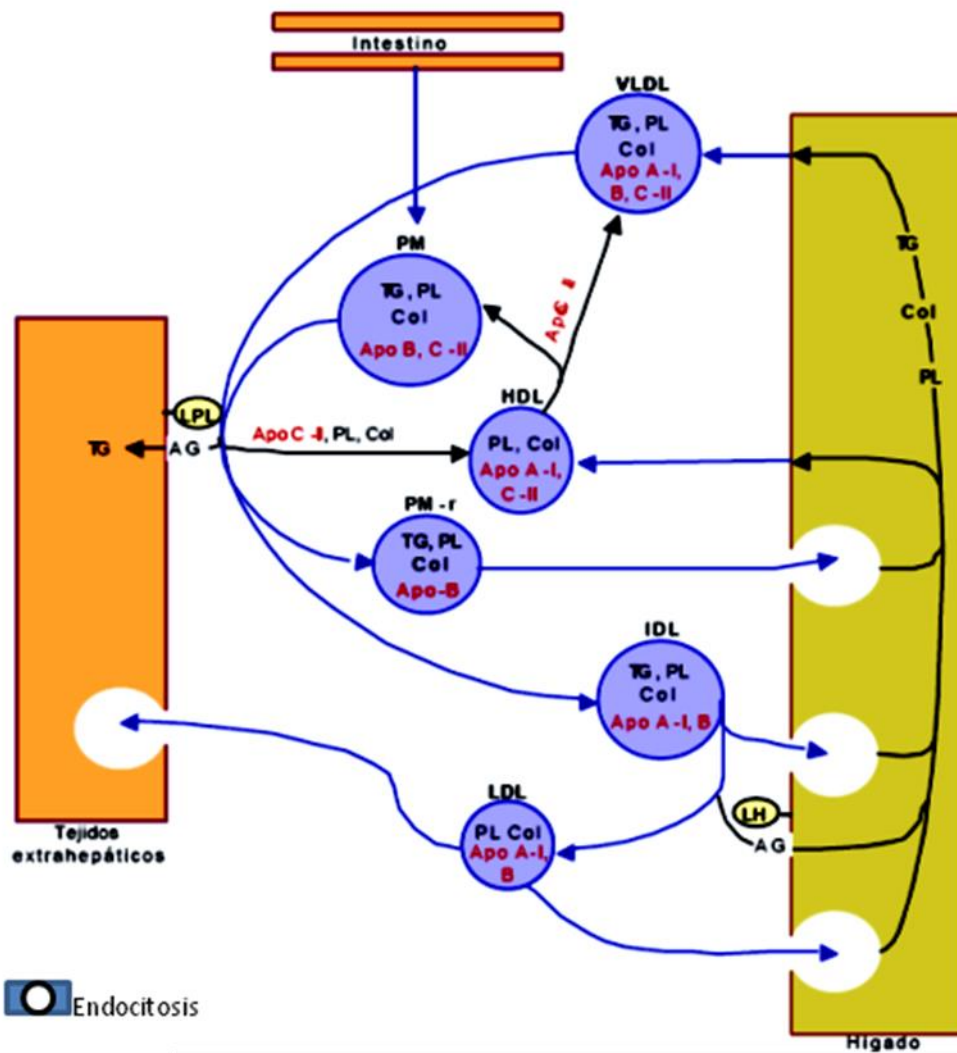
forma de lipoproteínas de muy baja densidad. Todos los productos hidrófobos y liposolubles de la digestión son transportados a los tejidos extrahepáticos que poseen la enzima lipoproteína lipasa, la cual libera los ácidos grasos que son incorporados a los lípidos tisulares u oxidados como combustibles (Murray *et al.*, 1997).

En las gallinas ponedoras durante el periodo de postura, las lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) son las proteínas transportadoras de grasa desde el hígado al ovario, donde serán usadas para la síntesis de la yema de huevo (Escribano, 1991).

2.5.2. Metabolismo de las lipoproteínas

Las lipoproteínas son complejos proteo-lipídicos que permiten el transporte de los lípidos a través de la sangre (Figura 4). Están compuestos por un núcleo hidrofóbico (lípidos no polares) y una capa externa de lípidos polares y apoproteínas. En las aves, según su contenido en triglicéridos y su densidad se diferencian cinco tipos de lipoproteínas (Tabla 4).

Las apoproteínas, además de aportar carácter hidrofílico a las lipoproteínas, juegan un papel muy importante en el metabolismo y reconocimiento de estas macromoléculas por los tejidos corporales. Existen al menos 13 apoproteínas en mamíferos con diferentes funciones y aunque en las aves no han sido bien identificadas, las conocidas, ejercen funciones similares (Tabla 5).



TG: Triglicérido; PL: Fosfolipidos; Col: Colesterol(esterificado o libre); LPL: Lipoproteína lipasa; LH: Lipasa hepática; PM: Portomicrones; VLDL: Lipoproteínas de muy baja densidad; IDL: Lipoproteínas de densidad intermedia; LDL: Lipoproteínas de baja densidad; HDL: Lipoproteínas de alta densidad.

Figura 4. Metabolismo de las lipoproteínas en aves (Griffin y Hermier, 1988)

Tabla 4. Principales características de las lipoproteínas de las aves

	PM	VLDL	IDL	LDL	HDL
Densidad	<1.013	<1.013	1.013-1.023	1.023-1.046	1.052-1.130
Composición (%)					
Triglicéridos	88,8	59,3	16,3	7,9	2,5
Fosfolípidos	6,2	14,2	20,2	22,9	28,6
Colesterol	3,6	5,2	7,7	9,7	3,2
Ésteres de colesterol		11,1	30,9	32,5	22,5
Proteínas	1,4	11,3	25,4	26,8	43,2

PM: Portomicrones; VLDL: Lipoproteína de muy baja densidad; IDL: Lipoproteína de densidad intermedia; LDL: Lipoproteína de baja densidad; HDL: Lipoproteína de alta densidad. (Griffin y Hermier, 1988).

Tabla 5. Apoproteínas en humanos y aves

Función	Humanos	Aves
Componentes de lipoproteínas		
QM/PM	A-I, A-II, A-IV, C-II, E, B48	B, C-II
VLDL	A-I, A-II, B100, C-II, D, E	A-I, B, C-II
LDL	B, C	A-I, B
HDL	A-I, A-II, C, D, E	A-I, C-II
IDL	E	A-I, B
Secreción de lipoproteínas	B48, B100	B
Activación de enzimas		
LPL	C-II	C-II
LCAT	A-I, C-I, A-IV	A-I
LH	A-II	A-I
Reconocimiento por receptores		
Receptor de LDL, IDL	B100, E	A-I
Receptor de QM/PM remanentes	E	B
Receptor de HDL	A-I	A-I
Inhibición del reconocimiento por receptores		
	C-I, C-II, C-III, (A-II)	
Transferencia de lípidos		
Transporte inverso de colesterol	A-I, A-IV, E	D

PM: Portomicrones; QM: Quilomicrones; VLDL: Lipoproteína de muy baja densidad; IDL: Lipoproteínas de densidad intermedia; LDL: Lipoproteínas de baja densidad; HDL: Lipoproteínas de alta densidad; LPL: Lipoproteinlipasa; LCAT: Lecitin colesterol aciltransferasa; LH: Lipasa hepática. (Griffin y Hermier, 1988; Welch y Borlakoglu, 1992).

2.5.2.1. Metabolismo de los portomicrones

A diferencia de los quilomicrones (QM) de los mamíferos, los portomicrones en las aves pasan de la circulación portal, directamente al hígado (Osorio y Flórez, 2011). Sin embargo, al igual que en mamíferos, su captación por parte del hígado no sucede sino hasta después de ser parcialmente metabolizados en los tejidos extrahepáticos, con un tiempo medio de circulación de 3-4 minutos (Griffin y Hermier, 1988).

Los portomicrones circulantes son sustrato de la enzima lipoproteína lipasa (LPL), la cual es activada por la Apo C-II. En este proceso se produce la hidrólisis de los triglicéridos y parte de los fosfolípidos, liberándose ácidos grasos que serán captados por los tejidos o transportados por el plasma unidos a la albúmina. El resto de fosfolípidos de los portomicrones junto con las Apo C, serán transferidos a las lipoproteínas de alta densidad (HDL), quedando un portomicrón remanente rico en ésteres de colesterol que será captado por el tejido hepático (con receptores para la Apo B).

2.5.2.2. Metabolismo de las VLDL

Las VLDL son sintetizadas en el hígado y liberadas a la circulación conteniendo triglicéridos, colesterol, fosfolípidos y las correspondientes apoproteínas (Tabla 2). Es conocido que, en las aves, el hígado es el principal sitio de síntesis de ácidos grasos (Fisher, 1984), por lo que la deposición corporal de grasa dependerá en gran medida de la secreción y los niveles plasmáticos de VLDL. De hecho, existe una clara correlación entre los niveles plasmáticos de VLDL y el engrasamiento corporal en el pollo siendo este un parámetro bioquímico que ha sido utilizado como un factor de selección para las líneas grasas y magras de pollos de engorde (Havenstein *et al.*, 1994).

En cuanto a la secreción de VLDL, son menos conocidos los factores que regulan este proceso; sin embargo, parece ser que la enzima D-9

desaturasa juega un papel importante (Legrand *et al.*, 1987 a,b ; Legrand y Lemarchal, 1988; Legrand y Hermier, 1992; Legrand *et al.*, 1997). El mecanismo por el cual esta enzima favorece la secreción de VLDL no está muy claro, aunque se han considerado algunas hipótesis. La enzima D-9 desaturasa incorpora un doble enlace en el carbono 9 de los ácidos grasos, formando ácido oleico y palmitoleico a partir del esteárico y palmítico, respectivamente. La introducción de este doble enlace produce una disminución en el punto de fusión del ácido graso, lo cual favorecería su incorporación a las lipoproteínas. Por otro lado, también existe la posibilidad de que el ácido oleico impida la degradación intracelular de Apo B, apoproteína necesaria para la síntesis de VLDL (Dixon *et al.*, 1991).

Al igual que los portomicrones, las VLDL son sustrato de la LPL. Una vez hidrolizados los TG, parte del colesterol, fosfolípidos y Apo-C son transferidos a las HDL. Las VLDL hidrolizadas pasan a formar las lipoproteínas de densidad intermedia (IDL) y las lipoproteínas de baja densidad (LDL) con mayor densidad que las VLDL, debido a su mayor contenido proteico.

2.5.2.3. Metabolismo de las IDL y LDL

Como se muestra en la Tabla 4, las IDL presentan mayor contenido en colesterol y ésteres de colesterol. Por su carencia en Apo-C, dejan de ser sustrato de la LPL, pudiendo ser captadas por el hígado o metabolizadas a LDL. La conversión de IDL a LDL parece ser mediada, al menos en mamíferos, por la lipasa hepática (LH), más que por la LPL (Welch y Borlakoglu, 1992), aunque parece ser que dicha enzima presenta una actividad inferior en las aves (Griffin y Hermier, 1988). En el proceso vuelven a hidrolizarse triglicéridos y fosfolípidos, quedando una partícula muy rica en colesterol.

Las LDL pueden ser captadas por gran variedad de tejidos, constituyendo una importante fuente de colesterol para la integridad de la membrana celular y la síntesis de hormonas esteroideas. La retirada de las IDL y LDL de la circulación es realizada por endocitosis mediada por receptor y posterior degradación en los lisosomas (Griffin *et al.*, 1989).

2.5.2.4. Metabolismo de las HDL

Las HDL pueden ser sintetizadas por el hígado o ser producto de la hidrólisis de lipoproteínas ricas en triglicéridos. Su composición se presenta en la Tabla 4. En mamíferos se han identificado diferentes formas de HDL (HDL₁, HDL₂ y HDL₃) con diferentes tamaños y composición (Welch y Borlakoglu, 1992). Sin embargo, hasta el momento en aves sólo se ha identificado una única forma (Griffin y Hermier, 1988). Actúan como vehículo de transporte del colesterol, tanto a los tejidos periféricos como hacia el hígado (transporte inverso de colesterol). En mamíferos, además, juegan un importante papel en el metabolismo de los QM y VLDL, ya que les transfieren las Apo C y E y captan el colesterol y fosfolípidos tras la hidrólisis de estas lipoproteínas. En aves, las HDL parecen ser también el principal reservorio de la Apo-C (Osorio y Flórez, 2011).

En mamíferos, las HDL son el principal sustrato de la lecitín-colesterol acil-transferasa (LCAT) activada por la Apo-AI, que esterifica el colesterol con la lecitina haciéndolo pasar al centro de la lipoproteína (parte hidrofóbica) y permitiendo proseguir su captación. En aves, la Apo-AI está también presente en las VLDL, IDL y LDL, por lo que todas estas lipoproteínas son sustrato para la esterificación del colesterol (Griffin y Hermier, 1988).

La lipoproteína lipasa (LPL) es la principal enzima responsable de la hidrólisis de triglicéridos contenidos en los PM o en las VLDL, liberándose

ácidos grasos que serán captados por las células de los tejidos. En dicha hidrólisis la Apo C-II actúa como cofactor.

La LPL está presente en el tejido endotelial de los capilares de muchos tejidos, incluyendo el adiposo, cardíaco, pulmonar, muscular y renal. Es sintetizada por las células parenquimatosas de los tejidos donde se encuentra (adipocitos, miocitos, células musculares) localizándose en el aparato de Golgi desde donde es secretado hacia la membrana celular (Vannier *et al.*, 1989). La secreción se produce en dos fases una primera correspondiente a la secreción de la enzima pre-existente, que dura unos 40 minutos, y otra segunda más lenta que corresponde a la secreción de la enzima que se está sintetizando. La enzima en las células parenquimatosas no es activa y precisa de una glucosilación post-translacional (Ong y Kern, 1989) para ser activada, antes de ser exportada a las células endoteliales (Fielding y Frayn, 1998). Aquí se une al heparán sulfato quedando situada en la cara luminal del endotelio capilar.

La LPL es regulada por diferentes hormonas, incluyendo la insulina (principalmente), glucocorticoides, tiroxina y glucagón, y parece localizarse a diferentes niveles incluyendo la transcripción, traslación y post-traslación (Bensadoun, 1991). Parece ser que en mamíferos existe una regulación tejido-específica, ya que la actividad de dicha enzima es diferente según el tejido estudiado y el estado nutricional del animal. Así, en estado de alimentación el tejido adiposo presenta mayor actividad de LPL que el tejido muscular o cardíaco, permitiendo el almacenamiento de energía, mientras que en estado de ayuno la situación se invierte y es el tejido muscular y cardíaco los que presentan más actividad ya que necesitan substrato para ser oxidado (Fielding y Frayn, 1998). Sin embargo, la LPL de aves no parece estar tan influida por el estado nutricional observándose muy poca variación entre el estado de ayuno y de alimentación en el tejido adiposo, esquelético y cardíaco (Griffin y Hermier, 1988).

La función de la LPL hace pensar que es una enzima de gran importancia en la regulación de la deposición de lípidos en el tejido adiposo. Sin embargo, según los estudios en mamíferos, existe una regulación coordinada entre varios factores en este tejido, incluyendo a la LPL, la lipasa sensible a hormonas y la capacidad de esterificación de los adipocitos en cada momento (Hermier, 1997). Mientras la capacidad de esterificación de TG en el tejido adiposo esté estimulada, tanto por la insulina como por la proteína estimuladora de la acilación, los ácidos grasos liberados por la acción de la LPL serán almacenados. Sin embargo, si la actividad de la LPL no va acompañada de una estimulación en la esterificación, los ácidos grasos liberados pasarán al torrente sanguíneo como ácidos grasos no esterificados (NEFA) unidos a la albúmina (Fielding y Frayn, 1998)

En las aves se relaciona a la LPL con el diferente engrasamiento entre líneas de carne o de huevo (Griffin *et al.*, 1989) y con el diferente crecimiento de los depósitos lipídicos (Butterwith, 1988). Sin embargo, al comparar líneas grasas y magras de pollos seleccionadas por los niveles de VLDL plasmáticos (Griffin *et al.*, 1989), se observa la misma actividad LPL en el tejido adiposo de ambas líneas, aunque exista mayor captación por parte del tejido adiposo abdominal de VLDL marcada con ^{14}C en las líneas grasas. Esto confirmaría los estudios realizados en mamíferos, según los cuales es necesaria la coordinación de diferentes factores para que la actividad LPL de un tejido resulte en una mayor captación de ácidos grasos por parte de éste. Asimismo, Griffin *et al.* (1989) observaron una mayor actividad LPL en el músculo cardíaco y del muslo de los pollos de las líneas magras respecto de los pollos de las líneas grasas, lo cual se podría relacionar con un mayor uso de los TG por estos tejidos a expensas de una disminución de su deposición en el tejido adiposo.

Un factor a tener en cuenta es el efecto de la dieta sobre la actividad de la LPL. Se ha demostrado en algunos estudios en ratas que la LPL de la

grasa abdominal presenta mayor afinidad por los ácidos grasos saturados (Sato *et al.*, 1999). Por otro lado, Montalto y Bensadoun (1993) demostraron un efecto inhibitorio de la secreción de LPL tras la administración crónica de ácidos poliinsaturados (linoléico y eicosapentaenoico) a cultivos de adipocitos, respecto del control, mientras que no se observó ningún efecto con el ácido oleico.

2.6. Síntesis e incorporación de los lípidos a la yema del huevo

La gallina durante su ciclo productivo puede incorporar diariamente unos 6 g de grasa en la yema, lo cual puede lograr a través de su organizado sistema de transporte y síntesis de grasa (Noble, 1998).

Los lípidos de la yema no son sintetizados en el ovario sino en el hígado (Osorio y Flórez, 2011). Una vez sintetizados, los triglicéridos son incorporados a lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL), que serán el vehículo de transporte de las grasas entre el hígado y tejidos extrahepáticos, tal como el ovario (Escribano, 1991). Las lipoproteínas (VLDL) del plasma se incorporan a los oocitos por endocitosis mediada por receptores específicos de la membrana celular (Nimpf y Schneider, 1991). Para que estas lipoproteínas de la yema se sinteticen en el hígado se precisa la acción de los estrógenos. Al comienzo de la puesta se incrementa el peso y contenido lipídico del hígado, así como la concentración lipídica en sangre como consecuencia de la acumulación de lipoproteínas de muy baja densidad ricas en triglicéridos.

Los oocitos son los receptores de los triglicéridos de las VLDL con apo B-100 en las gallinas ponedoras y únicamente, la subclase lipoproteínas apo B tiene acceso a los oocitos receptores. Las VLDL con tamaño mayor a 44 nm sufren una serie de cambios metabólicos y de ensamblaje para formar las VLDLy, que son más pequeñas en diámetro (25-44 nm) pero ricas en triglicéridos y son las encargadas de transportar energía en forma de lípidos

para la yema de huevo (la “y” viene del inglés “yolk”, por esta razón se han denominado VLDLy). Estas VLDLy contienen grandes cantidades de apo VLDL-II, son resistentes a la actividad lipolítica de la LPL, por lo tanto previenen la formación de IDL o LDL; las VLDLy tienen gran cantidad de triglicéridos pero bajos niveles de ésteres de colesterol (Walzem *et al.*, 1999). El proceso de ensamblado de las VLDLy depende del nivel de estrógenos (Nimpf y Schneider, 1991; Walzem *et al.*, 1999). Los estrógenos estimulan la síntesis de fosfolípidos y triglicéridos, así como la incorporación de acetato y glucosa para la formación de los triglicéridos, además de la liberación de estos hacia el torrente sanguíneo y la síntesis y acumulación en el hígado, mientras que la síntesis de colesterol aumenta en menor grado en el hígado (Kudzma *et al.*, 1975; Dashti *et al.*, 1983). Los estrógenos también estimulan la síntesis de apo B (Kirchgessner *et al.*, 1987) y apo VLDL-II por el hígado (Nimpf y Schneider, 1991), pero la apo B formada en el riñón no depende de los estrógenos (Laziera *et al.*, 1994). En las aves, en el retículo endoplásmico de los túbulos proximales del riñón se ensamblan partículas de VLDL de 60 nm de diámetro, estas VLDL nacientes son excretadas y llegan rápidamente a la sangre, mientras que son sintetizadas las apo B a lo largo del tubo. En este sentido, se ha considerado a los túbulos proximales como análogos del intestino delgado. Al parecer, en las gallinas ponedoras los estrógenos transforman todas las VLDL nacientes en VLDLy en los hepatocitos; las VLDLy poseen apo B-100 y apo VLDL-II, pero los túbulos proximales no sintetizan apo VLDLII, por lo tanto, las VLDL estarían expuestas a la hidrólisis por parte de la LPL mientras llegan al hígado (Walzem *et al.*, 1999). En las aves, los estrógenos pueden causar un incremento en la concentración de ácidos grasos libres en el plasma (Bacon *et al.*, 1978), lo cual podría incrementar el flujo de ácidos grasos en el sistema urinario y estimular la producción en tamaño y número de VLDL nacientes en los túbulos proximales. Por otra parte, la LPL está incrementada en el corazón y

disminuida en el tejido adiposo, para suplir las necesidades energéticas del músculo cardíaco a partir de las VLDL nacientes (Walzem *et al.*, 1999). En los casos donde el hígado se excede en la producción de lípidos pero disminuye en la secreción de las VLDL, se produce esteatosis hepática o síndrome de hígado graso por acumulación excesiva de triglicéridos en dicho órgano, este problema afecta a las gallinas ponedoras reduciendo la producción de huevos e incrementando la mortalidad, consecuentemente, es considerada el desorden metabólico más importante en las gallinas ponedoras (Hermier, 1997; Rahim, 2005). Una dieta rica en fosfolípidos ha logrado reducir la acumulación de triglicéridos en el hígado (An *et al.*, 1997).

En conclusión:

1. Las dietas de gallinas ponedoras suplementadas con aceites o grasa mejoran los parámetros productivos (eficiencia alimenticia, porcentaje de producción de huevo y peso de huevo), aunque estos dependen del perfil de los ácidos grasos de la fuente de lípido usado, la edad de las gallinas y el estado productivo en que se encuentren.
2. Las gallinas pueden modificar la composición de los lípidos de las yemas, la cantidad de albúmina y grosor de la cáscara como resultado de consumir dietas con grasa o aceites.
3. En general, las dietas con grasa o aceites no afectan la salud de las aves y es posible utilizarlas para mejorar la respuesta inmune y favorecer la efectividad de los programas de vacunación que se utilizan en la industria avícola.
4. Otros aspectos como los referidos al comportamiento reproductivo de las aves, y la viabilidad de los pollitos de gallinas reproductoras alimentadas con dietas que contengan cantidades apreciables de lípidos y en especial de aceite de pijiguo, deben ser investigados. Aportar información sobre estos aspectos, abriría un amplio rango de posibilidades de uso de este aceite en las granjas reproductoras de

esta especie animal. De manera que los objetivos planteados en el presente trabajo de investigación, están dirigidos, a dar respuestas a estos aspectos de gran interés científico y práctico para el sector avícola.

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Obtención y análisis de los aceites

Los frutos del pijiguao (*Bactris gasipaes*), ecotipo Amazonas, se cosecharon en la Estación Experimental Samán Mocho (estado Carabobo) de la Facultad de Agronomía (UCV) y en la Estación Experimental del Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA) del estado Amazonas, fueron secados y molidos para obtener una harina integral, a partir de la cual se realizó la extracción del aceite, con hexano, en una proporción 1:4 (1kg de harina: 4 L de hexano), mezclada manualmente, y finalmente decantada. El procedimiento de extracción fue repetido dos veces o más. El aceite crudo fue concentrado en un rotavapor (modelo Buche R-124) para eliminar exceso de hexano. El aceite de pijiguao obtenido fue utilizado sin ningún tratamiento adicional. La grasa amarilla y los aceites de maíz y de pescado fueron adquiridos comercialmente. El aceite de palma semi-refinado fue adquirido en la compañía Bananera Nacional (estado Yaracuy, Venezuela).

A todas las fuentes de grasa se les determinó los índices de acidez, peróxidos, yodo y de saponificación, densidad, punto de fusión y de solidificación (A.O.A.C., 1984). La composición de ácidos grasos se realizó por Cromatografía de Gases según la metodología de Morrison y Smith (1964). Los ácidos grasos metilados fueron separados utilizando un Cromatógrafo de Gases Varian 3400, equipado con detector de ionización de llama. Se utilizó una columna empacada con 15% de succinato de dietilenglicol (DEGS) sobre Chromosorb Wiaw, 80/100, 2m, SST, 1/8" diámetro externo x 2 mm diámetro interno, empleando nitrógeno a 30 mL/min como gas de arrastre. La temperatura de la columna durante los primeros 5 min fue de 250 °C y la del inyector de 230 °C. Se inyectaron 2 µL de cada

mezcla de ácidos grasos metilados, los cuales fueron identificados por sus tiempos de retención en comparación con los correspondientes patrones.

3.2. Dietas y manejo general de las gallinas ponedoras

Se formuló una dieta basal para gallinas ponedoras de acuerdo con los requerimientos nutricionales recomendados por la línea comercial Hy Line-Brown (2007), utilizando maíz y soya como ingredientes principales. Esta dieta fue suministrada a las aves durante un periodo de adaptación. Las gallinas (n=640) de 19 semanas de edad fueron alojadas en jaulas individuales con libre acceso al agua y al alimento. Luz artificial adicional les fue administrada de acuerdo a un programa progresivo, según la edad de las gallinas.

El experimento se inició a las 32 semanas de edad de las gallinas, las dietas fueron asignadas a las aves de acuerdo a un diseño completamente aleatorizado con un arreglo factorial. Los aceites de pijiguao, palma, maíz, pescado y grasa amarilla fueron incorporados a las dietas en cuatro niveles 0, 3, 6 y 9 %, para generar un total de 20 dietas (Tablas 6-10).

La dieta basal (0% de grasa añadida) fue utilizada como dieta control para cada una de las grasas evaluadas. Por esta razón, la dieta basal contó de 16 replicaciones. Se asignaron 4 grupos de 8 gallinas cada uno, a cada dieta experimental. El contenido de energía metabolizable de las raciones varió entre 2.780 y 3.250 kcal/kg, manteniéndose una relación energía/proteína de 163. Las cantidades de metionina+cistina, lisina, calcio y fósforo disponibles fueron mantenidas en todas las raciones, a un mínimo de 105% de los requerimientos. El valor de energía metabolizable asignado al aceite de pijiguao fue de 8.300 kcal/kg (Baldizán *et al.*, 2010); 8.800 kcal/kg al aceite de maíz (NRC, 1994); 8.000 kcal/kg al aceite de palma (Valencia *et al.*, 1993) y 6.800 kcal/kg al aceite de pescado (NRC, 1994). Antes de ser incorporado en la ración, al aceite de pescado se le añadió Banox-le®

(Alltech) al 0,05% , el cual es una mezcla de antioxidantes a base de: BHA dodecilgalato, etoxiquin y ácido cítrico, especialmente formulado para grasas, aceites y materia prima, así como alimento terminado. Las dietas experimentales fueron mezcladas cada 15 días y ofrecidas a las gallinas en forma de harina.

Tabla 6. Composición porcentual y análisis nutritivo calculado de las dietas experimentales con aceite de pijiguao

Ingredientes	Pijiguao ^{1/}			
			%	
Harina de maíz	65,23	58,93	53,35	47,78
Harina de soya	23,42	25,77	28,35	30,92
Aceite de pijiguao		3,00	6,00	9,00
Fosfato dicálcico	2,10	2,30	2,30	2,30
Carbonato de calcio	8,20	8,50	8,50	8,50
DL-metionina	0,25	0,20	0,20	0,20
NaCl	0,30	0,30	0,30	0,30
Premezcla de vitaminas y minerales ^{2/}	0,50	1,00	1,00	1,00
Totales	100	100	100	100
Análisis calculado				
Energía metabolizable ^{3/} (58cal/kg)	2.779,57	2.873,44	2.999,62	3.125,89
Proteína cruda (Nx6,25)	17,05	17,62	18,40	19,17
Grasa	2,92	3,32	3,50	3,67
E/P ⁴	163,02	163,03	163,01	163,02
Metionina+Cistina	0,82	0,78	0,79	0,80
Lisina	0,84	0,90	0,96	1,02
Triptófano	0,19	0,20	0,22	0,23
Calcio	3,83	3,70	3,71	3,72
Fósforo disponible	0,48	0,42	0,42	0,42
Ácido linoléico	1,30	1,61	1,94	2,27

^{1/} Se utilizó aceite de pijiguao (*Bactris gasipaes*) crudo (luego de ser extraído del fruto sin someterlo a ningún proceso de refinación).

^{2/} Premix ponedoras Reveex®

^{3/} El análisis calculado se realizó utilizando los valores de cada ingrediente según NRC (1994) a excepción de aceite de pijiguao para el cual se utilizó un valor de energía metabolizable de 8.300 kcal/kg (Baldizán *et al.*, 2010).

^{4/} E/P: Relación energía proteína

Tabla 7. Composición porcentual y análisis nutritivo calculado de las dietas experimentales con aceite de palma

Ingredientes	Palma ^{1/}			
			%	
Harina de maíz	65,23	59,17	53,83	48,50
Harina de soya	23,42	25,53	27,87	30,20
Aceite de palma		3,00	6,00	9,00
Fosfato dicálcico	2,10	2,30	2,30	2,30
Carbonato de calcio	8,20	8,50	8,50	8,50
DL-metionina	0,25	0,20	0,20	0,20
NaCl	0,30	0,30	0,30	0,30
Premezcla de vitaminas y minerales ^{2/}	0,50	1,00	1,00	1,00
Totales	100	100	100	100
Análisis calculado				
Energía metabolizable ^{3/} (59cal/kg)	2.779,57	2.857,82	2.968,37	3.079,02
Proteína cruda (Nx6,25)	17,05	17,53	18,21	18,89
Grasa	2,92	3,32	3,50	3,67
E/P ⁴	163,02	163,03	163,01	163,02
Metionina+Cistina	0,82	0,77	0,79	0,80
Lisina	0,84	0,89	0,95	1,00
Triptófano	0,19	0,20	0,21	0,23
Calcio	3,83	3,70	3,71	3,72
Fósforo disponible	0,48	0,42	0,42	0,42
Ácido linoléico	1,30	1,40	1,52	1,65

^{1/} Se utilizó aceite de palma africana (*Elaeis guineensis*) semi-refinado obtenido comercialmente.

^{2/} Premix ponedora® Reveex

^{3/} El análisis calculado se realizó utilizando los valores de cada ingrediente según NRC (1994).

^{4/} E/P: Relación energía proteína

Tabla 8. Composición y análisis nutritivo calculado de las dietas experimentales con aceite de maíz

Ingredientes	Maíz ^{1/}			
	%			
Harina de maíz	65,23	58,29	52,08	45,87
Harina de soya	23,42	26,41	29,62	32,83
Aceite de maíz		3,00	6,00	9,00
Fosfato dicálcico	2,10	2,30	2,30	2,30
Carbonato de calcio	8,20	8,50	8,50	8,50
DL-metionina	0,25	0,20	0,20	0,20
NaCl	0,30	0,30	0,30	0,30
Premezcla de vitaminas y minerales ^{2/}	0,50	1,00	1,00	1,00
Totales	100	100	100	100
Análisis calculado				
Energía metabolizable ^{3/} (60cal/kg)	2.779,57	2.915,00	3.082,84	3.250,67
Proteína cruda (Nx6,25)	17,05	17,88	18,91	19,94
Grasa	2,92	3,32	3,50	3,67
⁴ E/P	163,02	163,02	163,03	163,03
Metionina+Cistina	0,82	0,78	0,80	0,82
Lisina	0,84	0,91	0,99	1,07
Triptófano	0,19	0,21	0,22	0,24
Calcio	3,83	3,71	3,72	3,72
Fósforo disponible	0,48	0,42	0,42	0,42
Ácido linoléico	1,30	2,90	41,51	6,12

^{1/} Se utilizó aceite de maíz comercial.

^{2/} Premix ponedoras Reveex ®

^{3/} El análisis calculado se realizó utilizando los valores de cada ingrediente según NRC (1994).

^{4/} E/P: Relación energía proteína

Tabla 9. Composición porcentual y análisis nutritivo calculado de las dietas experimentales con aceite de pescado

Ingredientes	Pescado ^{1/}			
	%			
Harina de maíz	65,23	59,54	54,57	49,61
Harina de soya	23,42	25,16	27,13	29,09
Aceite de pescado		3,00	6,00	9,00
Fosfato dicálcico	2,10	2,30	2,30	2,30
Carbonato de calcio	8,20	8,50	8,50	8,50
DL-metionina	0,25	0,20	0,20	0,20
NaCl	0,30	0,30	0,30	0,30
Premezcla de vitaminas y minerales ^{2/}	0,50	1,00	1,00	1,00
Totales	100	100	100	100
Análisis calculado				
Energía metabolizable ^{3/} (61cal/kg)	2.779,57	2.833,72	2.920,18	3.006,72
Proteína cruda (Nx6,25)	17,05	17,38	17,91	18,44
Grasa	2,92	3,32	3,50	3,67
⁴ E/P	163,02	163,04	163,01	163,03
Metionina +Cistina	0,82	0,77	0,78	0,79
Lisina	0,84	0,88	0,93	0,97
Triptófano	0,19	0,17	0,21	0,22
Calcio	3,83	3,70	3,71	3,71
Fósforo disponible	0,48	0,42	0,42	0,42
Ácido linoléico	1,30	1,92	2,57	3,21

^{1/} Se utilizó aceite de pescado obtenido de una fuente comercial y se le añadió antioxidante

^{2/}Premix ponedora® Reveex

^{3/} El análisis calculado se realizó utilizando los valores de cada ingrediente (NRC,1994)

^{4/} E/P: Relación energía proteína

Tabla 10. Composición porcentual y análisis nutritivo calculado de las dietas experimentales con grasa amarilla

Ingredientes	Grasa Amarilla ^{1/}			
			%	
Harina de maíz	65,23	59,14	53,77	48,41
Harina de soya	23,42	25,56	27,93	30,29
Grasa amarilla		3,00	6,00	9,00
Fosfato dicálcico	2,10	2,30	2,30	2,30
Carbonato de calcio	8,20	8,50	8,50	8,50
DL-metionina	0,25	0,20	0,20	0,20
NaCl	0,30	0,30	0,30	0,30
Premezcla de vitaminas y minerales ^{2/}	0,50	1,00	1,00	1,00
Totales	100	100	100	100
Análisis calculado				
Energía metabolizable ^{3/} (62cal/kg)	2.779,57	2.859,66	2.972,06	3.084,54
Proteína cruda (Nx6,25)	17,05	17,54	18,23	18,92
Grasa	2,92	3,32	3,50	3,67
⁴ E/P	163,02	163,03	163,00	163,01
Metionina+Cistina	0,82	0,77	0,79	0,80
Lisina	0,84	0,89	0,95	1,00
Triptófano	0,19	0,20	0,21	0,23
Calcio	3,83	3,70	3,71	3,72
Fósforo disponible	0,48	0,42	0,42	0,42
Ácido linoléico	1,30	1,22	1,16	1,10

^{1/} Se utilizó Grasa amarilla comercial para uso en alimentación animal.

^{2/} Premix ponedoras Reveex®

^{3/} El análisis calculado se realizó utilizando los valores de cada ingrediente (NRC,1994)

^{4/} E/P: Relación energía proteína

3.3. Evaluación del comportamiento productivo

La cantidad de huevos producidos por las gallinas alimentadas con las dietas experimentales fueron registrados diariamente, desde las 32 hasta las 40 semanas de edad. Semanalmente se registraba el peso de 10 huevos de cada dieta. Se determinó el consumo de alimento mediante la diferencia entre lo ofrecido y lo residual en los comederos semanalmente. La mortalidad de las aves se registró cada día. A partir de toda esta información se calculó semanalmente el índice de conversión (g de alimento/ peso de los huevos) y la masa de huevo (porcentaje de producción por el peso de los huevos entre cien). Tanto al inicio del experimento como al final se registro el peso de todas las gallinas de cada tratamiento.

3.4. Evaluación de la calidad de los huevos

Los huevos recolectados durante el periodo desde la semana 32 hasta la 40 de edad de las gallinas, fueron pesados semanalmente. Se seleccionaron 5 huevos/semana/tratamiento para determinar la calidad, para lo cual se colocaron en cuarto de temperatura de 15°C. Una vez pesados se rompen cuidadosamente sin lesionar la clara densa y son vertidos en una mesa de espejo, para medir con un micrómetro la altura de la clara densa, para ello se selecciona un punto medio en la superficie externa de la clara. Con el valor del peso del huevo y la altura de la clara se obtienen las unidades haugh, como una medida de calidad interior más objetiva y precisa (Wells, 1968). Asimismo, con ayuda de una abanico de Roche se procedió a determinar el color de la yema y las otras variables de calidad evaluadas se realizaron según el método propuesto por Hayirli *et al.* (2005).

3.5. Evaluación de los parámetros reproductivos

Las gallinas ponedoras alimentadas con las dietas experimentales a partir de la semana 34 hasta la 40, fueron inseminadas con semen

proveniente de 90 gallos de la misma línea comercial. La inseminación se realizó semanalmente durante 6 semanas. El semen, una vez recolectado, se mantuvo en baño de maría a 37 °C, y posteriormente se combinó para ser depositado inmediatamente en el útero de cada gallina a razón de 0,05 mL/ave. Los huevos fueron recolectados a la semana de iniciar las inseminaciones y diariamente se almacenaron a 15 °C por 2 a 4 días siendo posteriormente incubados a 37 °C, con 85% de humedad, en una incubadora marca Chick Master. La fertilidad fue determinada al quinto día de incubación por ovoscopía y confirmada al finalizar el periodo de incubación. Al finalizar los nacimientos se realizó pesaje de los pollitos (Peebles *et al.*, 1998).

3.6. Inmunización de las gallinas

El procedimiento de inmunización se realizó según el descrito por Sunwoo *et al.* (1996). La inoculación se realizó en la semana 35 de edad. Se administró 0,05mL de la vacuna comercial de fiebre aftosa bovina, en el músculo de la pechuga. Las muestras de sangre (10 mL) fueron recolectadas por punción cardíaca de dos gallinas de cada replica, a los 15 d de la inoculación (Li *et al.*, 1998). La sangre recolectada fue mantenida por 2 h a temperatura ambiente y luego centrifugada a 489 *g* x 20 min para la obtención del suero, el cual fue congelado inmediatamente en alícuotas hasta el momento de realizar la determinación de los anticuerpos anti aftosa (Méndez *et al.*, 1998). Para determinar en las gallinas los anticuerpos producidos, producto de la vacuna aftosa, se aplicó la técnica seroepidemiológica de diagnóstico ELISA indirecto 3ABC, el cual es el método de *Screening* para determinación de animales positivos a la aftosa bovina, que en esta ocasión fue modificado para usar los sueros de las gallinas (Bergmann, 2000).

3.7. Análisis de las variables hematológicas

Para la evaluación hematológica al final del experimento se recolectaron, por punción cardíaca 5 mL de sangre de cada gallina, la cual fue depositada en tubos que contenían EDTA en solución al 10%. Para el recuento de los leucocitos, se empleó la solución de Turk. Se emplearon las técnicas convencionales de conteo en cámara de Neubauer y frotis coloreados, recomendado por el Comité Internacional de Estandarización en Hematología (ICSH) (Tatsumi *et al.*, 2002). La concentración de hemoglobina fue determinada por el método de cianometahemoglobina (Sheard *et al.*, 1933) el hematocrito, por el método del microhematocrito, centrifugando la sangre a 13.000 g x 15 min. (Strumia *et al.*, 1954).

3.8. Evaluación ecosonográfica de la estructura, función cardíaca

Los ecocardiogramas se realizaron en el Hospital Veterinario de Pequeños Animales “Dr. Daniel Cabello”, Sección de Pequeños Animales, de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la UCV. Para este estudio, un día antes de la evaluación y finalizado el experimento, 4 gallinas/tratamiento fueron trasladadas previamente al hospital, en un intento por minimizar el estrés a las aves. La evaluación se realizó utilizando un aparato de ultrasonido Sonosite (Modelo Titan), equipado con un transductor Micro convex 4-8 megaHertz- MHz. Se realizó en Modo B, por cortes transversos (forma de hongo) del corazón, empleando la válvula mitral como punto de referencia. Colocando el ave en posición ventro-dorsal y apoyando el transductor en la pechuga, se realizaron las siguientes mediciones: espesor de la pared posterior del ventrículo izquierdo en diástole (EPPVID) y en sístole (EPPVIS), el diámetro del ventrículo izquierdo en diástole (DVID) y sístole (DVIS), espesor del septum interventricular en diástole (ESIVD) y

sístole (ESIVS) y la frecuencia cardiaca (FC). A partir de estos valores anteriores se calcularon los siguientes índices:

Fracción de eyección: $FE = ((DVID - DVIS) / DVID) \times 100$

Fracción de acortamiento de la pared ventricular: $FAPV = ((EPPVIS - EPPVID) / EPPVIS) \times 100$

Fracción de acortamiento del septum interventricular: $FASI = ((ESIVS - ESIVD) / ESIVS) \times 100$

Volumen de fin de diástole: $VFD = (DVID)^3$

Volumen de fin de sístole: $VFS = (DVIS)^3$

Volumen de eyección: $VE = VFD - VFS$

Gasto cardiaco = $VE \times FC$

3.9. Análisis de la composición de los lípidos del suero, pechuga y huevos

En la semana 40 de edad de las gallinas, se seleccionaron 5 huevos/tratamiento, se les separó la yema, para extraer la grasa con una mezcla de cloroformo/metanol (2:1 v/v) de acuerdo con el método de Washburn (1989).

Al finalizar la fase experimental, se tomaron 5 gallinas/tratamiento para extraer los lípidos totales de los músculos de la pechuga por el método de Washburn (1989).

Asimismo, se determinó en los sueros de las gallinas de 40 semanas de edad ayunadas por 18 h, el colesterol plasmático total, triglicéridos y las lipoproteínas de alta y baja densidad, utilizando *kits* comerciales (Nagata *et al.*, 1980).

3.10. Histopatología de los tejidos

Para el estudio histopatológico de los tejidos, cinco gallinas fueron sacrificadas, se les realizó dos cortes longitudinales en los costillares, levantando la quilla y disecando cuidadosamente segmentos de bazo de

las gallinas, los cuales fueron conservados en formol neutro bufferado para realizar coloración con Hematoxilina-Eosina (Luna, 1968) y su posterior evaluación histopatológica. Adicionalmente, muestras de aproximadamente 3 cm de aorta torácica fueron tomadas, abiertas longitudinalmente y teñidas con solución Oil Red O (500mL de alcohol isopropílico al 70% y 1g de Oil Red O), durante 35 min, siguiendo la metodología de Jhonson (1995), a fin de observar posibles estrías grasas o áreas sudanofílicas. Posteriormente fueron lavadas con agua corriente para eliminar el exceso de colorante, se diferenciaron en alcohol isopropílico al 70% durante 1 h, 2h, y posteriormente evaluadas considerando la siguiente escala, el segmento completo sin presencia de coloración sudanofílica: Sin area sudanofílica (SAS); la mitad del segmento con area sudanofílica: Moderado (Mod) y mas de la mitad del segmento con area sudanofílica: Severo (Sev).

3.11. Análisis estadístico

Los datos experimentales obtenidos fueron analizados de acuerdo al procedimiento SAS (1990) PROC MIXED. El modelo estadístico fue el de un diseño completamente aleatorizado en arreglo factorial (5 x 4). El modelo incluyó los efectos principales de tipo de aceite (T), nivel de aceite o grasa incorporada a las dietas (N) y las posibles interacciones (T x N) y el error experimental. Se incluyó N como covariable lineal y cuadrática. Cuando se detectaron diferencias estadísticas entre los tratamientos, las medias fueron separadas mediante pruebas repetidas de t, utilizando las probabilidades generadas por la opción de los promedios mínimos cuadrados del paquete estadístico SAS (SAS Institute, 1990). Todos los datos naturalmente expresados en porcentaje, fueron transformados a arcoseno antes de realizar el análisis estadístico. Las diferencias estadísticas entre los tratamientos están referidas a un nivel de probabilidad de ≤ 0.05 .

RESULTADOS

4.1. Características físico-químicas y perfil de los principales ácidos grasos de los aceites y grasas evaluadas

Las características físico-químicas y el perfil de ácidos grasos del aceite de piiguao y las otras fuentes de lípidos se presentan en la Tabla 11. El índice de acidez, indicativo de la cantidad de ácidos grasos libres presentes, para el aceite de pijiguao fue $149,4 \pm 0,2$ g/kg, muy superior al contenido de las otras fuentes de grasa. El aceite de pescado mostró un índice de peróxido relativamente elevado $18,1 \pm 2,3$ meqO₂/kg reflejando la ocurrencia de algún grado de oxidación de los ácidos grasos poliinsaturados de este aceite; por esta razón se le agregó Banox-le® como antioxidante y fue almacenado en frío hasta su uso en las dietas experimentales. Como se esperaba, el aceite de pijiguao mostró un elevado contenido de ácido oleico (C18:1). Los aceites de pijiguao y maíz tuvieron la más alta relación de ácidos grasos insaturados / saturados (I/S). El aceite de pescado mostró una alta proporción de ácidos grasos saturados (50%) en comparación con los otros aceites, con una relación I/S de 0,6. Asimismo, se observó un contenido de ácido oleico (C18:1) en la grasa amarilla (40,2%) similar al del aceite de palma (42,1%) utilizado.

4.2. Comportamiento productivo

Los efectos de las dietas experimentales sobre las variables de comportamiento productivo de las gallinas se presentan en la Tabla 12. El tipo de grasa en las dietas sólo afectó significativamente ($p < 0,02$) la producción de huevos. El consumo de alimento y índice de conversión

fueron reducidos significativamente ($p < 0,0004$ y $0,0001$, respectivamente) al aumentar el nivel de grasa en la dieta, estableciéndose las ecuaciones de regresión para el consumo de alimento ($y = 107,31 - 1,6871(x) + 0,1732(x)^2$, $R^2 = 0,42$) y el índice de conversión ($y = 1,71 - 0,04(x) + 0,004(x)^2$, $R^2 = 0,043$).

Tabla 11. Características físico-químicas y perfil lipídico de los aceites de pijiguao, palma, maíz, pescado y grasa amarilla.

	Pijiguao	Palma	Maíz	Pescado	Grasa Amarilla
P.S. (°C)	35,0±0,1	34,0±0,1	-10,0±0,1	30,0±0,1	37,0±0,1
P.F. (°C)	37,0±0,1	38,0±0,1	-5,0±0,1	36,0±0,1	48,0±0,1
D. (g/mL)	0,97±0,0	0,98±0,0	0,98±0,0	0,98±0,0	0,98±0,0
I.I. (g l)	69,4±0,2	51,7±0,8	115,7±0,4	172,1±0,1	57,6±0,0
I.A. (g/kg)	149,4±0,2	0,4±0,0	0,3±0,0	4,2±0,0	23,9±0,1
I.S. (mg/KOH/g)	201,1±0,4	202,2±2,1	193,3±0,6	293,3±0,8	201,1±0,4
I.P. (meqO ₂ /kg)	2,9±0,9	0,4±0,0	1,0±0,0	18,1±2,3	2,2±0,4
Perfil de ácidos grasos (% de área)					
14:0		1,0		20,0	1,7
16:0	21,0	43,4	13,0	30,1	22,6
16:1	10,8			19,3	4,1
18:0		3,5	1,6	6,3	14,4
18:1	63,0	42,1	31,3	14,3	40,2
18:2	19,7	9,9	53,7	2,4	16,2
20:0					7,1

I/S	4,4	1,1	5,8	0,6	1,6
-----	-----	-----	-----	-----	-----

P.S.: punto de solidificación	I.A.: índice de acidez
P.F.: punto de fusión	I.S.: índice de saponificación
D.: densidad	I.P.: índice de peróxidos
I.I.: índice de yodo	
I/S: Relación ácidos grasos insaturados/saturados	

En ambas ecuaciones x, corresponde al nivel de inclusión. Las diferencias entre el aceite de pijiguao respecto de las otras fuentes de aceites evaluadas fueron significativas para el consumo de alimento, que fue superior al de las aves que recibieron las dietas con aceite de pescado (contraste de pijiguao vs pescado ($p < 0,04$)). La producción de huevos de las gallinas que consumieron aceite de pijiguao fueron superiores a las que recibieron las raciones con aceite de maíz ($p < 0,04$), aceite de pescado ($p < 0,02$) y con grasa amarilla ($p < 0,01$). Solamente las aves que consumieron la dieta con aceite de maíz produjeron menor masa total de huevos que las dietas con aceite de pijiguao ($p < 0,02$).

Asimismo, la interacción del tipo de grasa y el nivel de inclusión solo fue significativa ($p < 0,002$) para producción de huevos, lo cual se observa en la Tabla 13, en la cual se observa que los valores de producción de huevos de las gallinas que consumieron las dietas con aceite de pijiguao presentan valores comparables con el aceite de palma y maíz en los tres niveles de inclusión (3, 6 y 9%); solo hay diferencias significativas para los niveles 3% de grasa amarilla y 9 % de aceite de pescado que fueron significativamente menores a los obtenidos con el resto de los aceites.

4.3. Calidad de los huevos

Los efectos de las dietas sobre las variables de calidad de los huevos se resumen en la Tabla 14. En este sentido, se detectaron efectos significativos de los tipos de grasa sobre el grosor de la cáscara ($p < 0,05$) y el color de la yema ($p < 0,0001$). El peso de la yema aumentó significativamente ($p < 0,0008$) al aumentar el nivel de grasa en la ración ($y = 63,17 - 0,6(x) + 0,06(x)^2$,

$R^2=0,252$). Las unidades Haugh, una medida de la calidad interna del huevo, se redujo ($p<0,0045$) con cada nivel de adición de grasa ($y=94,37-0,65(x) + 0,008(x)^2$, $R^2=0,042$). Para la variable color de la yema hay un efecto significativo ($p<0,0006$), del nivel de grasa en dieta. Asimismo, esta variable y el peso de la cáscara fueron significativas para la interacción tipo de grasa y nivel $p<0,0001$ y $p<0,03$, respectivamente.

En la Tabla 15, se observa que los niveles 6 y 9% de inclusión de aceite de pijiguao en las raciones de las gallinas ponedoras resultaron en valores más elevados para color de las yemas. Adicionalmente, la Tabla 16 evidencia que el aceite de pijiguao tiene un efecto sobre el peso de la cascara similar al de la palma y pescado.

Las comparaciones ortogonales revelaron diferencias significativas ($p<0,02$) al comparar el aceite de pijiguao con el aceite de palma para la variable grosor de la cascara. El color de las yemas de los huevos provenientes de gallinas alimentadas con dietas con aceite de pijiguao, fue mas intenso al resto de las dietas; este efecto respondió a una respuesta cuadrática ($y= 4,36 - 0,36(x) + 0,03 (x)^2$, $R^2=0,805$).

Tabla 12. Efecto de diferentes niveles de aceites de pijiguao, palma, maíz, pescado y grasa amarilla sobre los parámetros productivos de gallinas ponedoras durante 8 semanas de experimentación.

Efectos principales Fuentes de Variación	Nivel (N)	Consumo	Producción de Huevo	Peso Huevo	Masa de Huevo ^{1/}	Peso Final Gallina	Índice Conversión ^{2/}
	(%)	(g/ave/día)	(%)	(g)	(g)	(g/ave)	(g/g)
Tipo de grasa (T)							
Pijiguao	...	106,6	95,59	64.44	62,13	1.919,2	1,67
Palma	...	107,3	95,02	65.25	61,89	1.931,4	1,66
Maíz	...	105,7	93,67	64.13	59,04	1.889,7	1,67
Pescado	...	103,8	93,40	64.19	60,58	1.888,4	1,63
Grasa Amarilla	...	105,2	93,05	64.13	59,89	1.897,3	1,65
EE		0,9422	0,6275	0.4798	0,87	16,697	0,0151
P > F		0,1068	0,0231	0.4168	0,0726	0,2626	0,3729
...	0	108,6	94,74	64.05	60,68	1.879,3	1,71
...	3	106,5	93,86	64.35	60,22	1.907,6	1,66
...	6	103,9	95,25	64.35	61,31	1.919,7	1,63
...	9	104,0	92,73	64.95	60,62	1.914,2	1,61
EE		0,8427	0,5613	0.4291	0,77	14,934	0,0135
P > F		0,0004	0,1370	0.5132	0,7994	0,2276	0,0001
TxN		0,1086	0,0024	0,5618	0,1217	0,3505	0,4889
Contrastes							
Lineal		0,0001	0,0708	0,1646	0,7986	0,0803	0,0001
Cuadrático		0,2070	0,1486	0,7279	0,8848	0,2592	0,2862
Pijiguao vs maíz		0,4844	0,0351	0,6468	0,0149	0,2113	0,8839

Pijiguo vs palma	0,6407	0,5263	0,2359	0,8460	0,6080	0,7702
Pijiguo vs pescado	0,0390	0,0167	0,7138	0,2140	0,1914	0,0786
Pijiguo vs grasa amarilla	0,2850	0,0058	0,6468	0,0741	0,3539	0,3667

EE: Error estándar. n=4

^{1/} Masa de Huevo: %producción x el peso de los huevos/100

Tipo de Grasa (T)	Nivel (N)			
	0%	3%	6%	9%
	(%)			
Pijiguo	96,41 ^{ab}	96,28 ^{ab}	96,31 ^{ab}	94,16 ^{ab}
Palma	96,09 ^{ab}	94,53 ^{ab}	94,75 ^{ab}	95,53 ^{ab}
Maíz	93,19 ^b	92,59 ^b	95,53 ^{ab}	94,13 ^{ab}
Pescado	92,75 ^b	97,06 ^a	95,41 ^{ab}	89,19 ^c
Grasa amarilla	96,44 ^{ab}	89,66 ^c	95,16 ^{ab}	91,84 ^{bc}

^{2/} Índice de conversión: g de alimento consumidos / peso de los huevos

Tabla 13. Efecto de la interacción tipo de grasa y nivel de inclusión sobre el porcentaje de producción de huevos de gallinas ponedoras durante 8 semanas de experimentación.

^{a-c} = letras diferentes entre filas y columnas indican diferencia significativas ($p < 0,002$)

Tabla 14. Efecto de dietas con distintos niveles de aceites de pijiguao, palma, maíz, pescado y grasa amarilla sobre la calidad de los huevos

Efectos principales Fuentes de Variación	Nivel	Peso Yema	Unidades Haugh	Altura Yema	Grosor Cáscara	Color	Peso Cascara	Peso Albúmina
Tipo de grasa (T)		(g)	(UH)	(mm)	(mm)		(g)	(g)
Pijiguao	...	16,63	91,75	19,18	18,99	6,8	6,04	41,49
Palma	...	16,76	92,61	19,49	18,01	3,3	6,01	42,24
Maíz	...	16,68	92,56	19,11	18,28	3,3	6,05	40,63
Pescado	...	16,40	91,51	19,16	18,93	2,9	6,19	41,84
Grasa amarilla	...	16,84	91,70	19,08	19,01	3,8	6,15	41,54
EE		0,26	0,81	0,12	0,29	0,13	0,08	0,53
P > F		0,8091	0,8061	0,1499	0,0532	0,0001	0,4710	0,3095
...	0	15,87	93,87	19,20	18,57	4,4	6,01	41,32
...	3	16,72	92,69	19,30	18,54	3,7	6,13	41,44
...	6	16,77	91,31	19,21	18,26	4,0	6,04	41,63
...	9	17,28	90,24	19,10	19,20	4,1	6,17	41,79
EE ^{1/}		0,23	0,73	0,11	0,26	0,12	0,07	0,48
P > F		0,0008	0,0045	0,6572	0,0862	0,0006	0,3649	0,9063
TxN		0,7905	0,9720	0,0755	0,6261	0,0001	0,0323	0,8990
Contrastes								
Lineal		0,0001	0,0003	0,4363	0,1980	0,1971	0,2318	0,4600
Cuadrático		0,4735	0,9403	0,3490	0,0604	0,0008	0,9451	0,9670
Pijiguao vs maíz		0,8938	0,4845	0,7238	0,1080	0,0001	0,9133	0,2610
Pijiguao vs palma		0,7136	0,4581	0,0800	0,0213	0,0001	0,8276	0,3279
Pijiguao vs pescado		0,5483	0,8379	0,9436	0,8825	0,0001	0,1937	0,6472
Pijiguao vs grasa amarilla		0,5707	0,9656	0,5720	0,9502	0,0001	0,3285	0,9478

^{1/}EE: Error estándar. n=5

Tabla 15. Efecto de la interacción tipo de grasa y nivel de inclusión sobre el color de las yemas de los huevos de gallinas ponedoras durante 8 semanas de experimentación.

^{a-i} = letras diferentes entre filas y columnas indican diferencias significativas

Tipo de Grasa (T)	Nivel (N)			
	0%	3%	6%	9%
		(escala)		
Pijigüao	4.7 ^c	6.2 ^b	8.0 ^a	8.8 ^a
Palma	4.1 ^{cde}	2.2 ^{ghi}	3.3 ^{cdefgh}	3.7 ^{cde}
Maíz	4.4 ^{cd}	3.6 ^{cdefg}	3.0 ^{efghi}	2.3 ^{fghi}
Pescado	4.5 ^{cd}	3.2 ^{defghi}	1.9 ⁱ	2.1 ^{hi}
Grasa amarilla	4.5 ^{cd}	3.1 ^{defghi}	3.9 ^{cdef}	3.7 ^{cdef}

($p < 0,0001$)

Tabla 16. Efecto de la interacción tipo de grasa y nivel de inclusión sobre el peso de las cascarras de los huevos de gallinas ponedoras durante 8 semanas de experimentación.

Tipo de Grasa (T)	Nivel (N)			
	0%	3%	6%	9%
		(g)		
Pijigüao	6.00 ^{bc}	5.95 ^{bc}	5.85 ^c	6.35 ^a
Palma	5.90 ^b	5.70 ^c	6.10 ^{bc}	6.35 ^a
Maíz	6.05 ^{bc}	6.30 ^{ab}	5.90 ^b	5.95 ^{bc}
Pescado	6.15 ^{bc}	6.25 ^{ab}	6.05 ^{bc}	6.30 ^{ab}
Grasa amarilla	5.95 ^{bc}	6.45 ^a	6.30 ^{ab}	5.90 ^c

^{a-c} = letras diferentes entre filas y columnas indican diferencias significativas ($p < 0,03$)

4.4. Contenido de grasa en yema y pechuga

La Tabla 17 muestra el efecto del tipo de grasa en la dieta sobre el contenido de grasa de la yema y el músculo de la pechuga. Las yemas con mayor contenido de grasa fueron las provenientes de las gallinas que consumieron aceite de pijiguao y grasa amarilla ($p < 0,0001$) y el mayor contenido de grasa depositado en los músculos de la pechuga, las gallinas que consumieron dietas con aceite de pescado ($p < 0,0001$). El nivel de 3% de grasa en la dieta presentó el menor contenido de grasa, tanto para yema como para pechuga ($p < 0,0001$).

La interacción entre tipo y el nivel de aceite o grasa evaluados fue significativa para el contenido de grasa, tanto en yema como en músculo de la pechuga; en ambos casos, el efecto fue cuadrático ($p < 0,003$ y $p < 0,001$, respectivamente) con la ecuación de regresión establecida para grasa en la yema ($y = 64,83 - 0,07(x) + 0,006(x)^2$; $R^2 = 0,863$) y, de la misma manera, para cantidad de grasa en las pechugas, la ecuación correspondiente ($y = 5,82 - 0,314(x) + 0,035(x)^2$; $R^2 = 0,666$).

En la Tabla 18 se observa que la interacción tipo de grasa y nivel el mayor contenido de grasa en las yemas fue el nivel de 6% tanto para aceite de pijiguao y 0, 6 y 9% de grasa amarilla. Asimismo, en la Tabla 19 el aceite de pijiguao evidenció una reducción significativa de grasa en el musculo de la pechuga cuando la dieta contenía solo el 3% de inclusión y en general el contenido de grasa en musculo es similar para pijiguao, maíz y pescado en los tres niveles de inclusión.

Tabla 17. Efecto de los diferentes niveles de aceites de pijiguao, palma, maíz, pescado y grasa amarilla sobre el contenido de grasa en yema y pechuga

Efectos principales Fuentes de Variación	Nivel (N)	Yema	Pechuga
Tipo de grasa (T)		(%)	(%)
Pijiguao	...	64,1	6,5
Palma	...	60,6	5,5
Maíz	...	56,0	6,2
Pescado	...	59,5	6,9
Grasa amarilla	...	64,3	5,5
EE		0,3454	0,077
P > F		0,0001	0,0001
...	0	61,1	6,4
...	3	58,9	5,6
...	6	62,0	6,0
...	9	61,7	6,4
EE		0,308	0,069
P > F		0,0001	0,0001
Interacción (TxN)		0,0001	0,0001
Contrastes			
Lineal		0,0010	0,0535
Cuadrático		0,0032	0,0001
Pijiguao vs maíz		0,0001	0,0043
Pijiguao vs palma		0,0001	0,0001
Pijiguao vs pescado		0,0001	0,0003
Pijiguao vs Grasa amarilla		0,7989	0,0001

EE: Error estándar. n=4

Tabla 18. Efecto de la interacción tipo de grasa y nivel de inclusión sobre el contenido de grasa en yemas de los huevos de gallinas ponedoras durante 8 semanas de experimentación.

Tipo de Grasa (T)	Nivel (N)			
	0%	3%	6%	9%
	(%)			
Pijiguo	64.00 ^{bcd}	62.50 ^{cde}	66.50 ^a	63.50 ^{bcd}
Palma	60.00 ^{fgh}	58.00 ^{hij}	62.00 ^{def}	60.75 ^{efg}
Maíz	56.00 ^{jk}	55.00 ^k	58.00 ^{hij}	57.00 ^{ijk}
Pescado	59.00 ^{ghi}	57.00 ^{ijk}	61.00 ^{efg}	58.50 ^{hi}
Grasa amarilla	65.26 ^{ab}	63.75 ^{bcd}	66.25 ^a	64.50 ^{abc}

^{a-k} = letras diferentes entre filas y columnas indican diferencias significativas ($p < 0,0001$)

Tabla 19. Efecto de la interacción tipo de grasa y nivel de inclusión sobre el contenido de grasa en las pechugas de las gallinas ponedoras durante 8 semanas de experimentación.

Tipo de Grasa (T)	Nivel (N)			
	0%	3%	6%	9%
	(%)			
Pijiguo	6.80 ^{abcd}	5.75 ^{efg}	6.48 ^{abcd}	6.83 ^{abc}
Palma	5.88 ^{cdefg}	5.03 ^g	5.38 ^{fg}	5.8 ^{defg}
Maíz	6.30 ^{abcdef}	5.93 ^{cdefg}	6.00 ^{bcdef}	6.30 ^{abcdef}
Pescado	6.75 ^{abcd}	6.38 ^{abcdef}	7.00 ^{ab}	7.10 ^{ab}
Grasa amarilla	5.88 ^{cdefg}	5.03 ^g	5.38 ^{fg}	5.80 ^{defg}

^{a-g} = letras diferentes entre filas y columnas indican diferencias significativas ($p < 0,0001$)

4.5. Perfil lipídico en plasma sanguíneo

Los valores de lípidos sanguíneos se presentan en la Tabla 20. Se observa que existe un efecto significativo ($p < 0,0001$) del tipo de grasa, para las variables, colesterol, triglicéridos, HDLc y LDLc. En relación con el nivel de inclusión de grasa en la dieta se evidencia diferencias significativas ($p < 0,0001$) entre los niveles; a medida que aumenta el nivel de grasa en la dieta disminuyen los valores (mg/dL) de colesterol, ($y = 315,12 - 17,04(x) + 1,54(x)^2$; $R^2 = 0,936$); para triglicéridos ($y = 977,04 - 120,6(x) + 6,09(x)^2$; $R^2 = 0,988$); para HDLc ($y = 39,51 - 1,92(x) + 0,493(x)^2$; $R^2 = 0,959$); y para LDLc ($y = 138,06 - 2,11(x) + 0,24(x)^2$; $R^2 = 0,892$).

Se apreciaron efectos lineal y cuadrático para las variables colesterol, triglicéridos y LDLc ($p < 0,0001$), no así, para los valores de HDLc, que disminuyen linealmente con el aumento del nivel de grasa en la dieta. Asimismo, se aprecia una interacción significativa ($p < 0,0001$) entre tipo y nivel de grasa usados sobre el perfil lipídico. La Tabla 21, evidencia que los niveles de colesterol sanguíneo, se reducen con la inclusión de los diferentes niveles de aceites a excepción de la grasa amarilla que logra mantener los valores de colesterol en sus niveles de 3 y 6% en la dieta. Las gallinas que consumieron las dietas con 6% de aceite de palma y pescado redujeron significativamente el colesterol. El aceite de pijiguo presentó valores de colesterol iguales al 6 y 9% de inclusión de aceite de maíz. Asimismo, en la Tabla 22, correspondiente a los valores de triglicérido, el aceite de pijiguo es igual al aceite de maíz en los niveles de inclusión 3 y 9%. Los menores valores de triglicéridos corresponden a el 6 y 9% de inclusión de aceite de pescado y los valores más elevados se logran con la inclusión de los tres niveles de grasa amarilla.

En la Tabla 23, el 6% de aceite de pijiguo mostró al igual que el 3 y 9% de aceite de maíz los valores más bajos de HDLc, y los valores más altos se obtuvieron con 9% de aceite de palma y al mismo nivel la inclusión de

grasa amarilla. El efecto de tipo de grasa y nivel de inclusión sobre el contenido de LDLc, se evidencia que el aceite de pijiguo se comportamiento fue igual al los aceites de palma, maíz y pescado en sus diferentes niveles de inclusión, solo con la grasa amarilla se evidencia diferencia significativas en los tres niveles evaluados (Tabla 24).

Tabla 20. Efecto de diferentes niveles de aceites de pijiguao, palma, maíz, pescado y grasa amarilla sobre el perfil lipídico de las gallinas ponedoras

Efectos principales Fuente de variación	Nivel (N)	Colesterol	Triglicéridos	HDLc	LDLc
Tipo de grasa (T)	(%)	(mg/dL)	(mg/dL)	(mg/dL)	(mg/dL)
Pijiguao	...	226,8	912,4	26,9	102,6
Palma	...	184,26	862,8	44,2	87,6
Maíz	...	211,76	942,7	18,1	99,9
Pescado	...	186,12	793,8	20,3	87,5
Grasa amarilla	...	286,50	1323,3	44,1	136,8
EE		2,64	29,96	0,96	2,83
P > F		0,0001	0,0001	0,0001	0,0001
...	0	310,3	985,2	37,9	138,5
...	3	195,3	1193,7	32,3	90,9
...	6	170,9	912,5	27,9	83,6
...	9	199,8	776,7	24,7	98,4
EE		2,36	26,80	0,86	2,53
P > F		0,0001	0,0001	0,0001	0,0001
Interacción (TxN)		0,0001	0,0001	0,0001	0,0001
Contrastes					
Lineal		0,0001	0,0001	0,0001	0,0001
Cuadrático		0,0001	0,0001	0,1536	0,0001
Pijiguao vs maíz		0,0493	0,4781	0,0001	0,4979
Pijiguao vs palma		0,0001	0,2463	0,0001	0,0004
Pijiguao vs pescado		0,0001	0,0069	0,0001	0,0004
Pijiguao vs Grasa amarilla		0,0001	0,0001	0,0001	0,0001

EE: Error estándar. n=4

Tabla 21. Efecto de la interacción tipo de grasa y nivel de inclusión sobre el contenido de colesterol sanguíneo de las gallinas ponedoras durante 8 semanas de experimentación.

Tipo de Grasa (T)	Nivel (N)			
	0%	3%	6%	9%
	(mg/dL)			
Pijiguo	310.00 ^{ab}	268.00 ^c	127.75 ^f	205.00 ^{de}
Palma	313.00 ^a	127.75 ^f	108.00 ^{gh}	187.75 ^e
Maíz	309.00 ^{ab}	203.00 ^{de}	122.00 ^{fg}	209.25 ^d
Pescado	309.75 ^{ab}	138.50 ^f	103.36 ^h	192.50 ^{de}
Grasa amarilla	309.75 ^{ab}	294.00 ^b	252.25 ^c	292.00 ^b

^{a-h} = letras diferentes entre filas y columnas indican diferencias significativas ($p < 0,0001$)

Tabla 22. Efecto de la interacción tipo de grasa y nivel de inclusión sobre el contenido de triglicéridos sanguíneo de las gallinas ponedoras durante 8 semanas de experimentación.

Tipo de Grasa (T)	Nivel (N)			
	0%	3%	6%	9%
	(mg/dL)			
Pijiguo	986.00 ^c	903.50 ^{de}	838.25 ^{ef}	925.50 ^{cd}
Palma	981.25 ^c	828.50 ^f	801.00 ^f	837.25 ^{ef}
Maíz	984.75 ^c	935.25 ^{cd}	907.50 ^d	947.00 ^{cd}
Pescado	981.75 ^c	804.50 ^f	680.75 ^g	708.50 ^g
Grasa amarilla	984.00 ^c	1263.00 ^b	1502.00 ^a	1561.8 ^a

^{a-g} = letras diferentes entre filas y columnas indican diferencias significativas ($p < 0,0001$)

Tabla 23. Efecto de la interacción tipo de grasa y nivel de inclusión sobre el contenido de HDLc sanguíneo de las gallinas ponedoras durante 8 semanas de experimentación.

Tipo de Grasa (T)	Nivel (N)			
	0%	3%	6%	9%
	(mg/dL)			
Pijigüao	37.40 ^d	23.50 ^f	15.75 ^{hi}	30.61 ^e
Palma	36.81 ^d	35.68 ^d	42.20 ^{bc}	61.50 ^a
Maíz	36.48 ^d	15.60 ^{hi}	9.24 ^{ik}	13.57 ^{ij}
Pescado	36.92 ^d	20.75 ^{fg}	7.75 ^k	18.53 ^{gh}
Grasa amarilla	37.18 ^d	45.17 ^b	38.75 ^{cd}	64.50 ^a

^{a-k} = letras diferentes entre filas y columnas indican diferencias significativas ($p < 0,0001$)

Tabla 24. Efecto de la interacción tipo de grasa y nivel de inclusión sobre el contenido de LDLc sanguíneo de las gallinas ponedoras durante 8 semanas de experimentación.

Tipo de Grasa (T)	Nivel (N)			
	0%	3%	6%	9%
	(mg/dL)			
Pijigüao	138.25 ^a	94.10 ^{bc}	84.75 ^{bcd}	100.75 ^b
Palma	138.11 ^a	76.00 ^{bcd}	64.65 ^{cd}	72.38 ^{bcd}
Maíz	138.25 ^a	92.25 ^{bc}	76.00 ^{bcd}	90.93 ^{bc}
Pescado	137.91 ^a	77.25 ^{bcd}	56.50 ^d	77.13 ^{bcd}
Grasa amarilla	137.94 ^a	134.25 ^a	133.75 ^a	138.75 ^a

^{a-d} = letras diferentes entre filas y columnas indican diferencias significativas ($p < 0,0001$)

4.6. Fertilidad y peso de los pollitos

La Tabla 25 muestra que no hubo efectos significativos del tipo y nivel de grasa en la dieta sobre la fertilidad y el peso de los pollitos; tampoco la interacción tipo x nivel de aceite o grasa en la dieta, fue significativa.

Tabla 25. Efecto de diferentes niveles de aceites de pijiguao, palma, maíz, pescado y grasa amarilla sobre la fertilidad y el peso de los pollitos al nacimiento

Efectos principales			
Fuente de variación	Nivel (N)	Fertilidad	Peso de pollitos
Tipo de grasa (T)	(%)	(%)	(g/pollo)
Pijiguao	...	81,27	41,18
Palma	...	80,41	41,55
Maíz	...	83,00	42,86
Pescado	...	78,26	41,40
Grasa Amarilla	...	69,57	41,87
EE		5,12	0,62
P > F		0,3881	0,3699
...	0	86,51	41,63
...	3	76,39	42,65
...	6	74,78	41,37
...	9	76,32	41,44
EE		4,5840	0,5621
P > F		0,2617	0,3453
Interacción (TxN)		0,4068	0,6257
Contrastes			
Lineal		0,1244	0,4600
Cuadrático		0,2105	0,4013
Pijiguao vs maíz		0,8122	0,6653
Pijiguao vs palma		0,9054	0,6842
Pijiguao vs pescado		0,6795	0,8063
Pijiguao vs grasa amarilla		0,1141	0,4456

EE: Error estándar. n=4

4.7. Función cardíaca y áreas sudanofílicas en la aorta torácica

La Tabla 26 presenta las variables evaluadas, evidenciándose que la fracción de eyección (FE), el volumen por minuto (Vmin), fueron afectados significativamente por el tipo de grasa, no observándose efectos significativos para frecuencia cardíaca (FC), gasto cardíaco (GC) y fracción de acortamiento (FA).

El nivel de grasa en la dieta solo afectó la FC, el Vmin y el GC; mientras que para FE y FA no se detectaron diferencias significativas. La interacción tipo x nivel de aceite o grasa en la dieta fue significativa para las variables FC y Vmin; se evidencian los efectos de la interacción tipo de grasa y nivel en estas dos variables, siendo para ambas cuadráticos ($p < 0,02$) para FC y $p < 0,004$ para Vmin, respectivamente.

El efecto de la interacción tipo de grasa y nivel solo es significativo para FC (Tabla 27), donde se observa que para el aceite de pijiguao las gallinas que consumieron el 3% de este aceite en las dietas mostraron la frecuencia cardíaca significativamente menor que la inclusión de 6% de este aceite (161,67 y 230,33 latidos /min, respectivamente).

Al contrastar el efecto del aceite de pijiguao con las otras fuentes de lípidos, no se apreciaron diferencias significativas con el aceite de maíz para todas las variables cardíacas estudiadas. La FE fue significativamente menor al comparar el aceite de pijiguao con todas las otras grasas usadas. No se observaron diferencias significativas entre los valores de FC. Por su parte, el Vmin expelido por las aves que consumieron las dietas con aceite de pijiguao fue superior al de las que recibieron las raciones con aceite de palma, aceite de pescado y grasa amarilla. En relación con el GC, el aceite de pijiguao fue significativamente superior al del aceite de pescado. FA del aceite de pijiguao fue inferior sólo al de grasa amarilla.

En el presente estudio, se evidenció la afinidad del colorante oil red para detectar macroscópicamente áreas sudanofílicas en la superficie interna de

la aorta; estos resultados se presentan en la Tabla 28. Casi la totalidad de las gallinas, sin importar la dieta consumida, mostraron afinidad por el colorante en la superficie interna de la aorta, aunque la severidad de las mismas fue muy variable. En este sentido, la mayor incidencia de áreas sudanofílicas fue observada en las aortas de las aves que consumieron dietas con aceite de pescado. Las raciones con aceite de pijiguo, palma, maíz y grasa amarilla, mostraron una afinidad similar no significativa y, en promedio, mostraron menores áreas sudanofílicas que la dieta con aceite de pescado.

Tabla 26. Efectos de dietas con distintos niveles de los aceites de pijiguao, palma, maíz, pescado y graa amarilla sobre la función cardiaca de las gallinas ponedoras luego de 8 semanas de ensayo

Efectos principales Fuente de Variación	Nivel (N)	Fracción de eyección VI	Frecuencia cardiaca	Volumen por min	Gasto cardiaco	Fracción de acortamiento
Tipo de grasa (T)	(%)	(%)	(latidos/min)	(ml/min)	(ml/min)	(mm)
Pijiguao	...	54,67	205,00	0,18	37,5	4,15
Palma	...	77,92	212,33	0,11	35,3	4,22
Maíz	...	60,00	218,33	0,17	38,1	4,30
Pescado	...	66,33	205,92	0,11	25,1	4,13
Grasa amarilla	...	73,17	214,25	0,10	33,8	4,41
EE		4,70	5,49	0,01	3,23	0,08
P > F		0,0077	0,3903	0,0021	0,0508	0,1056
...	0	71,07	223,20	0,10	27,6	4,19
...	3	60,27	201,53	0,17	39,7	4,12
...	6	69,40	209,40	0,14	36,2	4,35
...	9	64,93	210,53	0,13	32,1	4,31
EE ^{1/}		4,2058	4,9177	0,0145	2,8957	0,0731
P > F		0,2783	0,0292	0,0073	0,0319	0,1126
Interacción (TxN)		0,0551	0,0097	0,1700	0,0860	0,3065
Contrasts						
Lineal		0,6249	0,1783	0,2736	0,4488	0,0728
Cuadrático		0,4559	0,0256	0,0048	0,0081	0,8384
Pijiguao vs maíz		0,4273	0,0941	0,6392	0,8950	0,1896
Pijiguao vs palma		0,0012	0,3513	0,0033	0,6335	0,5385
Pijiguao vs pescado		0,0078	0,9067	0,0059	0,0103	0,8522
Pijiguao vs grasa amarilla		0,0070	0,2412	0,0020	0,4238	0,0285

^{1/}EE: Error estándar, n=3

Tabla 27. Efecto de la interacción tipo de grasa y nivel de inclusión sobre la frecuencia cardiaca de las gallinas ponedoras durante 8 semanas de experimentación.

Tipo de Grasa (T)	Nivel (N)			
	0%	3%	6%	9%
		(latidos/min)		
Pijiguo	209,67 ^{ab}	161,67 ^b	230,33 ^a	218,33 ^{ab}
Palma	231,67 ^a	203,33 ^{ab}	204,67 ^{ab}	209,67 ^{ab}
Maíz	237,33 ^a	236,00 ^a	196,33 ^{ab}	203,67 ^{ab}
Pescado	216,67 ^{ab}	199,00 ^{ab}	210,00 ^{ab}	198,00 ^{ab}
Grasa amarilla	220,67 ^a	207,67 ^{ab}	205,67 ^{ab}	223,00 ^a

^{a-b} = letras diferentes entre filas y columnas indican diferencias significativas ($p < 0,009$)

Tabla 28. Efecto de dietas con diferentes niveles de aceites de pijiguao, palma, maíz, pescado y grasa amarilla sobre la formación de superficies sudanófilica en la aorta torácicas de las gallinas, luego de 8 semanas de ensayo.

Tipo de grasa (T)	Nivel (N)	Presencia de área sudanofilica ^{1/}
Pijiguao	0	Mod
	3	Mod
	6	SAS
	9	Mod
Palma	0	Mod
	3	SAS
	6	Mod
	9	Mod
Maíz	0	Mod
	3	Mod
	6	Mod
	9	Mod
Pescado	0	Mod
	3	Mod
	6	Sev
	9	Sev
Grasa Amarilla	0	Mod
	3	SAS
	6	Mod
	9	Mod

n=5; ^{1/}SAS: Segmento torácico de la aorta sin presencia de áreas sudanófilica; Moderada (Mod) la mitad del segmento de aorta presenta áreas sudanófilicas; Severa (Sev) más de la mitad del segmento aórtico presenta áreas sudanófilicas.

4.8. Hematología y evaluación histopatológica del bazo

El efecto de la grasa dietética sobre las células y química sanguínea en las aves ha sido poco estudiado. La Tabla 29 resume los resultados de los efectos de las dietas con los distintos niveles de los aceites de pijiguao, palma, maíz, pescado y grasa amarilla sobre el número de glóbulos rojos (GR), hematocrito (Ht), glóbulos blancos (GB), la concentración de hemoglobina (Hg) y otras variables sanguíneas evaluadas de las gallinas ponedoras, luego de 2 meses de exposición a las dietas experimentales. Tanto el tipo de aceite y grasa, como su nivel afectaron significativamente a todas las variables sanguíneas. Las interacciones entre el tipo y el nivel de aceite y grasa también fueron significativas en su mayoría (0,0001). Observándose un efecto lineal y cuadrático para casi todas las variables a excepción del VCM. Las interacciones de tipo de grasa por nivel fueron significativas para $p < 0,0001$, para casi todas las variables hematológicas evaluadas, en el caso VCM el valor fue de $p < 0,0002$. En la Tabla 30, el nivel de inclusión del 6% de aceite de pijiguao reporta la menor concentración de GB para las gallinas que consumieron este aceite en sus dietas, la cual fue igual al comportamiento con el 6% de aceite de maíz. La Tabla 31 evidencia un efecto del aceite de pijiguao sobre el porcentaje de GR, al incluir en la dieta 3% de este aceite, se presenta una reducción significativa, el cual fue el menor valor de GB en comparación con los otros niveles de inclusión de este aceite y las demás fuentes de grasa evaluadas. Asimismo, este comportamiento para el aceite de pijiguao se mantiene al realizar el Ht, el cual corresponde a la cantidad de GR por volumen de sangre, en la Tabla 32 y al evaluar la Tabla 33 correspondiente a los valores de Hb, se observa este mismo efecto producto de la menor concentración de GR. Adicionalmente el menor valor de CHCM se obtuvo en las gallinas que consumieron dietas con 6% de aceite de pijiguao en comparación con las otras fuentes de grasa evaluadas Tabla 34. Al evaluar el tamaño de los GR

mediante VCM, el aceite de pijiguao en las dietas no evidencio en los tres niveles de incorporación efecto significativo y a excepción del aceite de palma que fue el valor más alto con el 9% de inclusión en la ración Tabla 35.

En relación a la serie blanca se evidencia una respuesta muy variable al observar las Tablas 36, 37, y 38 correspondientes a heterofilos, eosinofilos y linfocitos respectivamente. No parece haber un efecto significativo coincidente con la inclusión de las grasa en las dietas. Para caso del pijiguao aceite en estudio, el valor mas alto en porcentaje de heterofilo se logra con el 6% de inclusión en las dietas, el menor valor de eosinofilos se observó con el 6% de inclusión en la ración y el porcentaje de linfocitos fue similar en ambos niveles 3 y 6% de inclusión.

La Tabla 39, se observa la amplia variabilidad en las respuestas de la evaluación histopatológica del bazo de las aves sometidas a las dietas, aun con la utilización de un mismo tipo de aceite y grasa, por lo cual no es posible detectar resultados concluyentes. En la mayoría de los tratamientos experimentales se observa una disminución leve del número de linfocitos en el bazo, aunque 6 dietas mostraron bazos de aspecto normal, denominado en términos histopatológicos como “sin lesiones aparentes” (SLA). Tales dietas fueron aquellas que contenían 9% de aceite de pijiguao; 6% de aceite de palma; 0, 3 y 6% de aceite de maíz ó 0% de aceite o grasa.

Tabla 29. Efecto de distintos niveles de aceites de pijiguao, palma, maíz, pescado y grasa amarilla sobre la hematología sanguínea

Efectos principales Fuente de variación	Nivel (N)	Glóbulos blancos	Glóbulos rojos	Hematocrito	Hemoglobina	CHCM ^{1/}	VCM ^{2/}	Heterofilos	Eosinofilos	Linfocitos
	(%)	(x10 ³)	(x10 ⁶)	(g/dL)	(g/dL)	(pg)	(fL)	%	(%)	(%)
Tipo de grasa (T)	...	18,57	4,23	24,25	7,79	31,03	60,56 ^{ab}	63,96	15,90	20,56
Pijiguao	...	15,92	3,91	23,50	7,45	31,80	60,84 ^a	58,23	3,96	36,62
Palma	...	17,57	4,01	24,17	8,81	33,70	60,40 ^b	59,58	13,23	26,47
Maíz	...	15,39	4,63	27,75	8,74	30,98	60,71 ^a	59,56	16,62	29,83
Pescado	...	17,54	4,23	25,75	8,01	32,12	60,25 ^c	64,17	10,34	25,55
Grasa amarilla	...	0,04	0,05	0,36	0,07	0,07	0,08	0,11	0,07	0,05
EE										
P > F		0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0002	0,0001	0,0001	0,0001
...	0	19,10	3,82	22,00	8,81	36,03	60,57	61,07	20,73	17,93
...	3	17,47	4,21	25,60	8,11	32,24	60,49	59,31	11,05	29,68
...	6	15,36	4,37	26,40	7,60	28,76	60,53	61,95	6,84	31,46
...	9	16,05	4,42	26,33	8,12	30,67	60,62	59,61	9,42	31,54
EE ^{3/}		0,0425	0,0454	0,3232	0,0665	0,0683	0,7810	0,1061	0,0692	0,0519
P > F		0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,6732	0,0001	0,0001	0,0001
Interacción (TxN)		0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0002	0,0001	0,0001	0,0001
Contrasts										
Lineal		0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,5574	0,0007	0,0001	0,0001
Cuadrático		0,0001	0,0007	0,0001	0,0001	0,0001	0,2924	0,0101	0,0001	0,0001
Pijiguao vs maíz		0,0001	0,0033	0,8713	0,0001	0,0001	0,2072	0,0001	0,0001	0,0001
Pijiguao vs palma		0,0001	0,0001	0,1500	0,0023	0,0001	0,0271	0,0001	0,0001	0,0001
Pijiguao vs pescado		0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,6459	0,2316	0,0001	0,0001	0,0001
Pijiguao vs grasa amarilla		0,0001	0,9083	0,0055	0,0381	0,0001	0,0167	0,2215	0,0001	0,0001

^{1/} CHCM: La cantidad de hemoglobina relativa al tamaño de la célula (concentración de hemoglobina) por glóbulo rojo

^{2/} VCM: Tamaño promedio de los glóbulos rojos

^{3/} EE: Error estándar, n=4

Tabla 30. Efecto de la interacción tipo de grasa y nivel de inclusión sobre la cantidad de globulos blancos de las gallinas ponedoras durante 8 semanas de experimentación.

Tipo de Grasa (T)	Nivel (N)			
	0%	3%	6%	9%
	(x10 ³)			
Pijigüao	19,43 ^b	19,76 ^{ab}	15,67 ^e	19,40 ^b
Palma	19,50 ^b	15,84 ^e	14,07 ^g	14,28 ^g
Maíz	19,43 ^b	20,13 ^a	15,79 ^e	14,92 ^f
Pescado	19,34 ^b	14,08 ^g	14,09 ^g	14,05 ^g
Grasa amarilla	17,80 ^c	17,58 ^{cd}	17,19 ^d	17,60 ^{cd}

^{a-g} = letras diferentes entre filas y columnas indican diferencias significativas (p<0,0001)

Tabla 31. Efecto de la interacción tipo de grasa y nivel de inclusión sobre la cantidad de globulos rojos de las gallinas ponedoras durante 8 semanas de experimentación.

Tipo de Grasa (T)	Nivel (N)			
	0%	3%	6%	9%
	(x10 ⁶)			
Pijigüao	4,53 ^{cd}	2,80 ^g	5,00 ^{abc}	4,60 ^{bcd}
Palma	3,80 ^{ef}	4,30 ^{de}	3,60 ^f	3,93 ^{ef}
Maíz	3,67 ^f	4,80 ^{abcd}	3,80 ^{ef}	3,77 ^{ef}
Pescado	3,60 ^f	4,53 ^{cd}	5,10 ^{ab}	5,30 ^a
Grasa amarilla	3,50 ^f	4,60 ^{bcd}	4,30 ^{de}	4,50 ^{cd}

^{a-f} = letras diferentes entre filas y columnas indican diferencias significativas (p<0,0001)

Tabla 32. Efecto de la interacción tipo de grasa y nivel de inclusión sobre la cantidad de Hematocrito de las gallinas ponedoras durante 8 semanas de experimentación.

Tipo de Grasa (T)	Nivel (N)			
	0%	3%	6%	9%
	(g/dL)			
Pijiguo	22,00 ^d	17,00 ^e	30,00 ^a	28,00 ^{ab}
Palma	23,00 ^{cd}	26,00 ^{bc}	22,00 ^d	23,00 ^{cd}
Maíz	22,00 ^d	29,00 ^{ab}	23,00 ^{cd}	22,67 ^{cd}
Pescado	22,00 ^d	28,00 ^{ab}	31,00 ^a	30,00 ^a
Grasa amarilla	21,00 ^d	28,00 ^{ab}	26,00 ^{bc}	28,00 ^{ab}

^{a-e} = letras diferentes entre filas y columnas indican diferencias significativas ($p < 0,0001$)

Tabla 33. Efecto de la interacción tipo de grasa y nivel de inclusión sobre la cantidad de Hemoglobina de las gallinas ponedoras durante 8 semanas de experimentación.

Tipo de Grasa (T)	Nivel (N)			
	0%	3%	6%	9%
	(g/dL)			
Pijiguo	9,40 ^{ab}	5,77 ^k	8,00 ^{efg}	8,00 ^{efg}
Palma	8,60 ^{cde}	8,30 ^{def}	6,23 ^{jk}	6,67 ^{ij}
Maíz	9,63 ^{ab}	9,90 ^a	7,10 ^{hi}	8,60 ^{cde}
Pescado	7,13 ^{hi}	8,90 ^{bcd}	9,23 ^{abc}	9,70 ^a
Grasa amarilla	9,30 ^{abc}	7,70 ^{fgh}	7,43 ^{ghi}	7,63 ^{fgh}

^{a-k} = letras diferentes entre filas y columnas indican diferencias significativas ($p < 0,0001$)

Tabla 34. Efecto de la interacción tipo de grasa y nivel de inclusión sobre la CHCM de las gallinas ponedoras durante 8 semanas de experimentación.

Tipo de Grasa (T)	Nivel (N)			
	0%	3%	6%	9%
		(pg)		
Pijiguo	34,20 ^c	34,73 ^c	26,60 ⁱ	28,57 ^h
Palma	37,27 ^b	33,07 ^d	28,10 ^{hi}	28,77 ^h
Maíz	32,27 ^{de}	34,50 ^c	30,73 ^{fg}	37,30 ^b
Pescado	32,20 ^e	31,53 ^{ef}	30,00 ^g	30,17 ^g
Grasa amarilla	44,20 ^a	27,37 ^{ij}	28,37 ^h	28,53 ^h

^{a-j} = letras diferentes entre filas y columnas indican diferencias significativas ($p < 0,0001$)

Tabla 35. Efecto de la interacción tipo de grasa y nivel de inclusión sobre la VCM de las gallinas ponedoras durante 8 semanas de experimentación.

Tipo de Grasa (T)	Nivel (N)			
	0%	3%	6%	9%
		(fL)		
Pijiguo	60,77 ^{abcd}	60,50 ^{abcd}	60,17 ^{bcd}	60,80 ^{abcd}
Palma	60,43 ^{bcd}	60,40 ^{bcd}	61,10 ^{ab}	61,43 ^a
Maíz	60,60 ^{abcd}	60,10 ^{cd}	60,40 ^{bcd}	60,50 ^{abcd}
Pescado	61,00 ^{abc}	60,80 ^{abcd}	60,67 ^{abcd}	60,36 ^{bcd}
Grasa amarilla	60,03 ^d	60,63 ^{abcd}	60,33 ^{bcd}	60,00 ^d

^{a-d} = letras diferentes entre filas y columnas indican diferencias significativas ($p < 0,0002$)

Tabla 36. Efecto de la interacción tipo de grasa y nivel de inclusión sobre el porcentaje de heterofilos de las gallinas ponedoras durante 8 semanas de experimentación.

Tipo de Grasa (T)	Nivel (N)			
	0%	3%	6%	9%
		(%)		
Pijiguo	61,10 ^e	61,07 ^e	77,37 ^a	56,30 ^g
Palma	71,00 ^c	66,10 ^d	50,00 ^j	45,83 ^k
Maíz	54,83 ^h	50,20 ^j	58,10 ^f	75,17 ^b
Pescado	58,43 ^f	66,10 ^d	46,20 ^k	55,33 ^{gh}
Grasa amarilla	60,00 ^e	53,07 ⁱ	78,17 ^a	65,43 ^d

^{a-k} = letras diferentes entre filas y columnas indican diferencias significativas ($p < 0,0001$)

Tabla 37. Efecto de la interacción tipo de grasa y nivel de inclusión sobre el porcentaje de eosinofilos de las gallinas ponedoras durante 8 semanas de experimentación.

Tipo de Grasa (T)	Nivel (N)			
	0%	3%	6%	9%
		(%)		
Pijiguo	25,36 ^c	22,10 ^d	6,13 ^j	10,00 ^h
Palma	23,33 ^c	4,00 ^l	5,03 ^k	4,50 ^{kl}
Maíz	27,83 ^b	6,03 ^j	11,00 ^g	8,03 ⁱ
Pescado	30,10 ^a	12,10 ^f	12,03 ^f	12,23 ^f
Grasa amarilla	18,00 ^e	11,03 ^g	5,33 ^k	12,33 ^f

^{a-l} = letras diferentes entre filas y columnas indican diferencias significativas ($p < 0,0001$)

Tabla 38. Efecto de la interacción tipo de grasa y nivel de inclusión sobre el porcentaje de linfocitos de las gallinas ponedoras durante 8 semanas de experimentación.

Tipo de Grasa (T)	Nivel (N)			
	0%	3%	6%	9%
		(%)		
Pijigüao	14,10 ^l	17,03 ^k	17,10 ^k	34,00 ^f
Palma	27,00 ⁱ	30,07 ^h	44,97 ^a	44,43 ^a
Maíz	14,53 ^l	43,13 ^b	31,10 ^g	17,10 ^k
Pescado	12,00 ^m	22,13 ^j	42,03 ^c	40,17 ^d
Grasa amarilla	22,03 ^j	36,03 ^e	22,10 ^j	22,03 ^j

^{a-m} = letras diferentes entre filas y columnas indican diferencias significativas ($p < 0,0001$)

Tabla 39. Efecto de dietas con distintos niveles de los aceites de pijiguao, palma, maíz, pescado y grasa amarilla sobre el análisis histopatológico del bazo de las gallinas, luego de 8 semanas de ensayo

Tipo de grasa	
<i>Pijiguao</i>	
0	Infiltración heterófila
3	Hiperplasia linfoide
6	Linfodepleción
9	SLA
<i>Palma</i>	
0	Infiltración Heterófila/Linfodepleción leve
3	Linfodepleción moderada
6	SLA
9	Linfodepleción severa
<i>Maíz</i>	
0	SLA
3	SLA
6	SLA
9	Linfopenia moderada
<i>Pescado</i>	
0	Linfodepleción leve
3	Linfodepleción leve
6	Linfodepleción leve
9	Hiperplasia linfoide
<i>Grasa amarilla</i>	
0	SLA
3	Linfopenia leve a moderada
6	Linfopenia leve
9	Hiperplasia linfoide

n=5; SLA: sin lesiones aparentes; Infiltración heterófila: presencia de células inflamatorias heterófilas; Hiperplasia linfoide: aumento del número de linfocitos; Linfodepleción: reducción del número de linfocito, la cual puede ser: leve, moderada o severa.

4.9. Respuesta inmune primaria

El presente trabajo evaluó la respuesta inmune humoral primaria de las gallinas al antígeno A24 del virus de la fiebre aftosa, luego de ser alimentadas durante 2 meses con las dietas experimentales con niveles crecientes (0-9%) de los aceite de pijiguo, palma, maíz, pescado y grasa amarilla. El tipo de grasa afectó significativamente la producción de anticuerpos ($p < 0,0001$), observándose en la Tabla 40 que el aceite de pijiguo generó una mayor respuesta al antígeno A24, al compararlo con el aceite de palma, pescado y grasa amarilla. En cuanto al nivel de incorporación de grasa en la dieta, a mayor porcentaje se evidencia una reducción lineal significativa de la producción de anticuerpos ($p < 0,0048$), ($y = 0,245 - 0,36(x) + 1,23(x)^2$; $R^2 = 0,75$). Asimismo, hay un efecto significativo de la interacción tipo de grasa por nivel ($p < 0,0001$), evidenciado en la Tabla 41, el la cual no observamos diferencias significativas entre los niveles de inclusión de aceite de pijiguo en la respuesta de producción de anticuerpos. Similar comportamiento se observó para el aceite de palma, pescado y grasa amarilla, solo el nivel de 3% de inclusión de aceite de maíz obtuvo la mayor producción de anticuerpos. Los contrastes ortogonales revelaron que el aceite de pijiguo generó una respuesta inmune en producción de anticuerpos A24, mayor que las dietas con los aceites de palma, pescado y grasa amarilla.

Tabla 40. Efecto de dietas con distintos niveles de aceites de pijiguao, palma, maíz, pescado y grasa amarilla sobre la respuesta inmune de las gallinas

Efectos principales Fuente de variación	Nivel (N)	Anticuerpos A24 ^{1/}
Tipo de grasa (T)	(%)	
Pijiguao	...	0,319
Palma	...	0,201
Maíz	...	0,282
Pescado	...	0,120
Grasa amarilla	...	0,211
EE		0,02
P > F		0,0001
...	0	0,276
...	3	0,244
...	6	0,243
...	9	0,145
EE		0,02
P > F		0,0048
Interacción (TxN)		0,0001
Contrastes		
Lineal		0,0013
Cuadrático		0,2051
Pijiguao vs maíz		0,3774
Pijiguao vs palma		0,0055
Pijiguao vs pescado		0,0001
Pijiguao vs Grasa amarilla		0,0111

EE: Error estándar. n=8

^{1/} Valores de absorbancia obtenidos por ELISA indirecto 3ABC, el cual determina los anticuerpos de las gallinas inoculadas con vacuna de aftosa bovina

Tabla 41. Efecto de la interacción tipo de grasa y nivel de inclusión sobre los anticuerpos de las gallinas ponedoras durante 8 semanas de experimentación.

Tipo de Grasa (T)	Nivel (N)			
	0%	3%	6%	9%
	(Absorbancias)			
Pijiguo	0,320 ^{bc}	0,417 ^{abc}	0,400 ^{abc}	0,201 ^{bc}
Palma	0,280 ^{bc}	0,310 ^{bc}	0,083 ^c	0,155 ^{bc}
Maíz	0,227 ^{bc}	0,520 ^a	0,183 ^{bc}	0,209 ^{bc}
Pescado	0,270 ^{bc}	0,201 ^{bc}	0,126 ^{bc}	0,059 ^c
Grasa amarilla	0,259 ^{bc}	0,238 ^{bc}	0,300 ^{bc}	0,156 ^{bc}

^{a-c} = letras diferentes entre filas y columnas indican diferencias significativas (p<0,0001)

DISCUSIÓN

5.1. Características físico-química y perfil de los principales ácidos grasos de los aceites y grasas evaluadas

El aceite de piiguo presentó un mayor índice de acidez, en comparación con las otras grasas evaluadas, aunque este valor fue 17,6 g/kg menor al reportado por Báldizan *et al.* (2010). Esta acidez resulta de la actividad enzimática de las lipasas del fruto recién cortado sobre los triglicéridos, con la consecuente liberación de ácidos grasos, lo cual es conocido como acidificación y se acelera cuando los racimos son cortados de la palma o los frutos se desprenden del racimo de manera natural (Rozo y Velasco, 2007). Este proceso puede detenerse industrialmente a través de la inactivación con calor en los minutos subsiguientes a la cosecha de los racimos de frutos. En nuestro caso, el procedimiento de inactivación no se llevó a cabo por no disponer del equipamiento y logística necesaria. En general, las características físico-químicas de los aceites de palma, maíz, pescado y grasa amarilla se corresponden con los valores conocidos (NRC, 1994).

La principal medida para mantener la calidad de una grasa o aceite, *grado animal* es prevenir su oxidación (Chandler, 1993). La oxidación ocurre cuando la molécula de triglicérido reacciona con el oxígeno para formar peróxidos y radicales libres, entre otros compuestos potencialmente tóxicos. El aceite de pescado presentó un valor de índice de peróxido elevado (18,1 meqO₂/kg) en comparación con las otras fuentes de grasa cuyo promedio fue 1,6 meqO₂/kg. Sin embargo, las aves toleran niveles altos de peróxidos (76 meqO₂/kg) y de acidez, sin mostrar efectos negativos sobre los parámetros productivos (Tortuero, 1966). Adicionalmente, Bimbo (1999) señala dentro de los estándares de calidad de aceites crudos de pescado un valor de 20 meqO₂/kg como límite superior para el índice de peróxidos.

El perfil de ácidos grasos determinado al aceite de pijiguao, evidenció que el contenido de ácido oleico fue superior al reportado por Yuyama *et al.* (2003) y Baldizán *et al.* (2010). Los aceites de pijiguao y maíz tuvieron la más alta relación de ácidos grasos insaturados / saturados (I/S). En relación con el aceite de pescado, este mostró una alta proporción de ácidos grasos saturados (50 %), lo cual, no coincide con el perfil de ácidos grasos de diferentes tipos de estos aceites de pescado que han sido evaluados (Romero *et al.*, 2000), en particular para el contenido de ácido palmítico (16:0). Asimismo, las otras fuentes de grasa utilizadas en este estudio presentaron composición que se corresponden con lo reportado en otros estudios (Mateos *et al.*, 1996).

5.2. Comportamiento productivo

El objetivo fundamental de esta investigación fue determinar el efecto de las dietas con aceite de pijiguao sobre el comportamiento productivo de las gallinas ponedoras, en comparación con otros aceites de distinto perfil lipídico.

Una vez analizados los aceites se elaboraron las dietas experimentales, para evaluar el comportamiento productivo de las gallinas; las respuestas obtenidas fueron similares a los resultados publicados por Kúćúkersan *et al.* (2010), utilizando los aceites de girasol, soya o aceite de pescado, en dietas de gallinas ponedoras de 36 semanas de edad.

La disminución del consumo de alimento y la mejora en la eficiencia productiva, al aumentar el nivel de incorporación de grasas en las dietas experimentales, era esperada y coincide con lo reportado por Grobas *et al.* (1999a) y Augustyn *et al.* (2006), entre otros autores. Posiblemente estas respuestas forman parte de los ajustes de las aves a sus necesidades diarias de energía en respuesta a las distintas concentraciones energéticas de las raciones (Vargas *et al.*, 1984; Harm *et al.*, 2000, Bohnsack *et al.*, 2002). Las

gallinas ponedoras son capaces de regular su consumo de alimento, incrementándolo conforme a los mayores requerimientos de producción de huevo. La cantidad de alimento ingerido varía de acuerdo a la edad y a la etapa de producción y debe satisfacer el requerimientos de energía (Kcal EM), bajo condiciones ambientales y de manejo adecuadas (Leeson y Summers, 2005; Martínez, 2008).

A diferencia de lo reportado por Grobas *et al.* (2001), el porcentaje de producción de huevos obtenido en el presente trabajo, los resultados evidencian un efecto de la interacción correspondiente a tipo y nivel de la fuente de grasa usada. Sin embargo, los valores más altos y bajos en la producción de huevos se obtuvieron con los niveles de 3 y 6% de aceite de pescado, respectivamente. Para el aceite de pijiguao, principal objetivo de estudio, los valores de porcentaje de producción no evidenciaron diferencias significativas con los diferentes niveles de inclusión utilizados, demostrando que este aceite logra alcanzar los niveles de producción de huevos establecidos para las gallinas de la línea genética Hy line-Brown (2007).

El peso del huevo es resultado de caracteres genéticos cuantitativos con alto grado de heredabilidad (55%), siendo las líneas más pesadas y semi pesadas, las que tienden a producir huevos de mayor peso respecto de las líneas ligeras (Tepox *et al.*, 2012). Peebles *et al.* (2000) indicaron que el peso del huevo aumenta progresivamente con la edad de las gallinas. Es importante resaltar que, entre otras razones, el uso comercial de grasas en dietas para gallinas ponedoras, se utiliza como estrategia para aumentar el peso del huevo. Sell *et al.* (1987) observaron que este efecto era debido a un aumento del peso de la yema, presentándose en gallinas con edades comprendidas entre 24 a 38 semanas. En el presente trabajo, la evaluación del peso de los huevos se realizó cuando las aves tenían entre 38 y 40 semana de edad, por lo cual, el efecto de las grasa dietética sobre esta variable no se evidenció con las dietas que tenían grasa incorporada; estos

resultados coinciden con lo reportado por Harms *et al.* (2000); Bohnsack *et al.* (2002). Adicionalmente, Antar *et al.* (2004), establecen que los incrementos significativos del peso del huevo, por lo general, se observan luego de transcurrir las dos primeras semanas de haber consumido una dieta alta en energía. Contrario a los efectos sobre aumento del peso del huevo, Kim *et al.* (2007) y Yin *et al.* (2008), observaron reducciones del peso de los huevos, cuando las gallinas fueron alimentadas con dietas suplementadas o enriquecidas con los ácidos grasos libres oleico, linoléico y linolénico, lo cual indica que la estructura del triglicérido en la dieta parece ser requerido para la expresión del efecto de las grasas sobre el peso de los huevos.

5.3. Calidad de los huevos

Los resultados obtenidos en la evaluación de los parámetros de calidad de los huevos fueron similares a los observados por El-Afifi *et al.* (2008), con el uso de aceite de palma, girasol, linaza y mezclas de estos aceites, en niveles de 7,5 y 15% de inclusión. Sin embargo, difieren de lo reportado por SenKoylu *et al.* (2005), quienes no encontraron efectos sobre la calidad de los huevos de gallinas alimentadas con niveles, de hasta 22% de aceite de soya en la ración, aunque este aceite no fue objeto de evaluación en el presente trabajo.

La calidad interna de los huevos expresada en unidades Haugh, reveló que todos los huevos fueron de calidad AA, ya que los valores obtenidos superan ampliamente el límite inferior establecido para alcanzar esta categoría (Stadelman y Cotterill, 1977). Los resultados de peso de la cáscara, albúmina y altura de la yema no fueron estadísticamente diferentes entre las dietas. El-Husseiny *et al.* (2008) incorporaron aceites de palma, girasol y linaza en porcentajes de 2,4% y 4,8% en la dieta, obteniendo respuestas similares. Asimismo, no se evidenció efecto sobre el grosor de la

cáscara, en concordancia con los estudios de García *et al.* (2008) con el uso de aceites de linaza y pescado en dietas para gallinas ponedoras.

En relación con el color de las yemas producto de los aportes de pigmentos de las dietas, Lesson y Summers (1997) establecen que los huevos con color de yema entre 7 y 8 en el Abanico Roche, son clasificados como grado A. En este sentido, sólo las gallinas que consumieron las dietas con aceite crudo de pijiguao depositaron la cantidad de pigmentos carotenoides suficientes para lograr esta categoría. Aunque no fue determinado experimentalmente, el aceite de pijiguao presentó una coloración amarilla intensa asociada normalmente con la presencia de altos niveles de pigmentos carotenoides en los aceites crudos de palmas. Los pigmentos carotenoides expresan un efecto antioxidante (Anderson *et al.*, 2008) que al parecer reduce el efecto oxidativo que se presenta durante el desarrollo embrionario (Surai y Speake, 1998). Esto indica una posible utilidad para la utilización del aceite crudo de pijiguao en dietas para gallinas reproductoras, aunque, el valor antioxidante del aceite de pijiguao en este tipo de dietas estaría aún por confirmarse.

5.4. Contenido de grasa en yema y pechuga

La casi totalidad de los lípidos del huevo están en la yema en forma de lipoproteínas. Whitehead *et al.* (1991) evidenciaron un aumento de grasa en las yemas de los huevos de gallinas que consumieron grasas de origen animal, a diferencia de las fuentes vegetales. Por otra parte, Hussein *et al.* (2002) y Al-Sultan (2005) encontraron que el contenido de grasa en las yemas fue mayor, cuando evaluaron diferentes fuentes de lípidos, en comparación con dietas sin lípidos. Por su parte, Ansari *et al.* (2006) y Augustyn *et al.* (2006) no evidenciaron efectos significativos sobre el contenido de grasa en las yemas con la incorporación ácidos grasos omega-

3. Nuestros resultados evidencian un mayor contenido de grasa en la yema según el nivel de incorporación de grasa en la dieta.

Estudios de Yau *et al.* (1991) y Hrdinka *et al.* (1996) observaron efectos de los lípidos en la dieta sobre la composición y contenido de grasa en los músculos de la canal de pollos, aunque la deposición más significativa se apreció en la grasa abdominal. En relación con el contenido de grasa en los diferentes músculos del pollo, Kirchgessner *et al.* (1993) encontraron un aumento del contenido de grasa en el músculo de la pechuga en respuesta al aumento de los niveles de ácido linoléico en la dieta; este efecto fue confirmado en nuestros resultados con los diferentes niveles de incorporación de las grasas en las dietas. Scaife *et al.* (1994), observaron niveles similares de grasa muscular con dietas que contenían sebo, soya, colza o aceite pescado. Estos resultados son diferentes a los observados en el presente trabajo en los cuales los contenidos de grasa de la pechuga de las gallinas fueron diferentes al del aceite de pijiguao. Se ha evidenciado un aumento de la grasa solo en los músculos de la pechuga cuando se incorporan ácidos poliinsaturados (PUFA) en el alimento, lo cual sugiere que la dieta con PUFA podría causar una distribución diferente de la grasa en los tejidos en comparación con ácidos grasos saturados o de ácidos grasos monoinsaturados (Crespo y García, 2001).

5.5. Perfil lipídico en plasma sanguíneo

El metabolismo de los lípidos, en particular la biosíntesis de colesterol de las gallinas ponedoras, ocurre principalmente en el hígado y, durante su etapa productiva y reproductiva, dicha síntesis aumenta para satisfacer las necesidades de transporte de lípidos del hígado a los folículos ováricos (Shivaprasad y Jaap, 1977). Nuestros valores de colesterol son coincidentes con los valores reportados por otros autores (Peebles *et al.*, 2004). El colesterol es transportado como parte de las lipoproteínas HDLc y LDLc, vía

sanguínea hacia el hígado (Sutton et al., 1984; Hermier y Dillon, 1992). La inclusión de aceites de soya, coco, grasa de cerdo y bovino en dietas para gallinas no modifican los niveles de colesterol, HDLc y LDLc en sangre (Hirata *et al.* 1986). En el presente trabajo, se observaron efectos significativos en el perfil lipídico de las gallinas en respuesta al tipo y nivel de inclusión, lo cual es similar a lo reportado por Stewart (1988). Este autor reportó que los lípidos de la dieta pueden modificar la cantidad de colesterol de las yemas en aproximadamente un 25%. El aceite de pijiguao y el maíz presenta efectos similares sobre los niveles de triglicéridos y LDLc en plasma; en coincidencia con los resultados reportados por Báldizan *et al.* (2010) en pollos de engorde; sin embargo, los valores de colesterol y HDLc del pijiguao son mayores que los del aceite de maíz. El menor contenido de HDLc en plasma correspondió al aceite de maíz; este efecto ha sido reportado por otros investigadores (Shepherd *et al.*, 1978; Mattson y Grundy, 1985)

Es importante resaltar que, las gallinas en producción reducen las concentraciones de HDLc en plasma hasta tres veces por debajo del nivel de aves que no están en postura (Hermier *et al.*, 1985; 1989). Los valores de HDLc en plasma para las gallinas que consumieron la dieta con aceite de pijiguao, maíz y pescado son significativamente ($p < 0,0001$) menores en comparación con las raciones que incluían palma y grasa amarilla; estos resultados son similares a los reportados con aceite de girasol, linaza y semillas de calabaza (Celebi y Utlu, 2006; Martínez *et al.*, 2010).

5.6. Fertilidad y peso de los pollitos

Inicialmente, el presente trabajo pretendió evaluar el efecto de las dietas experimentales sobre el comportamiento reproductivo de las gallinas ponedoras, incluyendo fertilidad, incubabilidad y peso de los pollitos al nacer. A estos fines, las aves fueron inseminadas con semen extraído de gallos

mantenidos con una dieta basal estándar. Una vez, inseminadas las gallinas, los huevos fueron recolectados y colocados en la incubadora. Sin embargo, luego de 10 d de incubación, fallas en el suministro de electricidad en el área universitaria por periodos relativamente largos, afectó el desarrollo embrionario de una proporción significativa de los huevos fértiles, por lo cual no pudo llevarse a cabo la evaluación de incubabilidad con la rigurosidad estadística requerida. Un número de huevos logró culminar satisfactoriamente el periodo de incubación, por lo cual se decidió tomar el peso al nacer de 20 pollitos sin defectos aparentes, por cada dieta experimental para evaluar, aún de manera preliminar, el efecto de dichas dietas sobre el peso de los pollitos al nacer. Es claro, que los efectos de los distintos aceites y en particular del aceite de pijiguao, sobre el desarrollo embrionario debe ser objeto de una investigación posterior bajo condiciones experimentales mejor controladas.

En relación con la fertilidad, no se observaron efectos significativos atribuibles a las dietas experimentales. Resultados similares fueron reportados por Cherian (2008) al incorporar ácidos grasos libres poli-insaturados en dietas de reproductoras pesadas. Bozkurt *et al.* (2008), observaron efectos significativos sobre la fertilidad al comparar aceite de salmón y aceite de maíz en reproductoras pesada.

5.7. Función cardiaca y áreas sudanofílicas en la aorta torácica

Sturkie (1986) señala que el funcionamiento cardiaco en las aves es afectado por la temperatura ambiental, la presión sanguínea, el sexo y la resistencia vascular periférica. En la actualidad, las líneas genéticas de aves utilizadas comercialmente con mayor predisposición a afecciones cardiacas son las de pollos de engorde, lo cual está asociado al manejo al cual son sometidos durante su ciclo productivo (Korte *et al.*, 1999). En estudios de Martinez *et al.* (1998) con el uso de la ecocardiografía, se comparó aves

pesadas con aves livianas, como las gallinas ponedoras, y no observaron diferencias en los parámetros ecocardiograficos evaluados; sin embargo, en el estudio postmortem de estas aves, los pollos de engorde presentaron menor desarrollo de la estructura cardiovascular, lo cual podría predisponerlos a mayor incidencia de fallas cardiacas.

La frecuencia cardíaca tiende al aumento en la dieta a base de acidos grasos saturados (AGS) y acidos grasos trans (AGT), los cuales cambian la fluidez en las membranas celulares, a través de su interacción de forma diferente con las regiones hidrofóbicas de los canales iónicos cardiacos (Katz, 2006), pueden disminuir el umbral de las células y propiciar las arritmias cardiacas (McLennan, 1993). Las grasas compuestas principalmente por ácido oleico y AGPI n-3, tienen un efecto preventivo en la aparición de arritmias (McLennan, 1993). El aceite de pijaño fue el que presentó mayor contenido de ácido oleico (C18:1), sin embargo, en los resultados de este experimento, con ninguna de las fuentes de lípidos usadas en las dietas de las gallinas se presentó un aumento o disminución de los parámetros cardiacos que pudiera generar arritmias.

La afinidad de la superficie interna de la aorta por el colorante oil red han sido asociadas con la presencia de lesiones ateroscleróticas en aves, en respuesta a la dieta (Gupta y Greewal, 1980). Dietas con colesterol añadido inducen lesiones ateroscleróticas en la aorta torácica de pollos en tan sólo 5 semanas (Katz y Stamler, 1953). Estas respuestas han permitido proponer el empleo de los pollos y gallinas como modelos experimentales apropiados para el estudio de la aparición y progresión de la aterosclerosis, la cual, en estas aves, tiene marcada similitud con las lesiones ateroscleróticas observadas en los humanos (Ayala *et al.*, 2005). En el presente trabajo, casi la totalidad de las gallinas, sin importar la dieta consumida, mostraron áreas sudanofílicas en la sección de aorta torácica muestreada y la respuesta fue moderada, lo cual confirma que las gallinas

pueden desarrollar aterosclerosis espontáneamente (Ayala *et al.*, 2005). Es importante resaltar que estudios recientes de Fisher *et al.* (2015), evidenciaron en pollos alimentados con grasas, estos presentaron lesiones mucho mas marcadas en la sección de aorta abdominal en comparación con el segmento de aorta torácica.

El aceite de pescado con los niveles 6 y 9% de inclusión evidencia una severa respuesta en la intima de la aorta con el colorante oil red, la cual, puede sugerir que hay un efecto de los niveles de peróxidos del aceite de pescado (I.P: 18,1 meqO₂/kg). El índice de peróxidos es un indicativo del avance de la oxidación lipídica y, de acuerdo a las consideraciones indicadas por Aquerreta (2000), es favorecida por la presencia de ácidos grasos insaturados y las condiciones de almacenamiento y procesamiento. En los estudios de Giacopini y Bosch (2008) usando ratas alimentadas con dietas con aceite de palma, girasol y pescado evidenciaron que las LDLc y HDLc presentaron altos valores de oxidación en aquellas que consumieron el aceite de pescado, esto sugiere que la incorporación de ácidos grasos monoinsaturados (oleico C18:1) en la dieta en lugar de poliinsaturados, pueden proteger las LDLc y HDLc de las modificaciones oxidativas al reducirse la concentración de AGPI disponibles para la peroxidación. Asimismo, Abilés *et al.* (2009), demostraron que la ingesta de grasas oxidadas incrementa la peroxidación lipídica en el plasma de los animales de experimentación, lo cual a pesar de no conferir toxicidad letal, indica el inicio de la degradación oxidativa endógena. Numerosas evidencias indican que la génesis de la lesión ateromatosa de la pared arterial está relacionada con las modificaciones oxidativas de los lípidos. Los resultados obtenidos en estudios bioquímicos y experimentales en modelos animales en las investigaciones clínicas y epidemiológicas apoyan la hipótesis de que las modificaciones oxidativas de las lipoproteínas de baja densidad (LDLc)

desempeñan un papel causal e importante en el inicio y progresión de la aterosclerosis (Streinbrecher *et al.*, 1990).

5.8. Hematología y evaluación histopatológica del bazo

El número de células sanguíneas en las aves puede ser afectado por variados factores incluyendo la edad, el sexo de las aves, las hormonas, la disponibilidad de oxígeno y la nutrición (Sturkie, 1986). El efecto de la grasa dietética sobre las células y química sanguínea en las aves, ha sido poco estudiado. Es importante destacar que los valores obtenidos para todas las células sanguíneas están dentro del rango considerado normal (Sturkie, 1986; Talebi *et al.*, 2005; Gbemiga, 2013) y permite constatar el adecuado estado de salud de las gallinas. Aun cuando las diferencias entre las dietas fueron significativas, los valores absolutos fueron muy cercanos y la variación entre los valores extremos fue inferior al 10%. En general, todos los valores de Hb obtenidos en todas las aves bajo experimentación, se asemejan al valor normal en gallinas adultas. Asimismo, Said *et al.*, (2008), no evidenciaron efectos sobre variables hematológicas en gallinas bajo dietas con aceite de girasol y avellana a diferentes niveles.

Los escasos reportes en relación con los efectos de la dieta sobre el número y tipos de leucocitos no han sido concluyentes, quizás debido a que la población de glóbulos blancos cambia rápidamente en presencia de una variedad de condiciones (Sturkie, 1986). Los trabajos iniciales de Goff *et al.* (1953) revelaron que una deficiencia de riboflavina aumenta el número de heterófilos y reduce el número de linfocitos. Una respuesta similar puede ser observada en el caso de una deficiencia de Vit B1, desconociéndose las razones para este efecto distintivo entre los 2 tipos de leucocitos. Newcomer (1958) reportó un mayor número relativo de heterófilos en respuesta a situaciones de estrés; resultados confirmados posteriormente por Besch *et al.*

(1967). Siegel (1962) observó un importante incremento en el número de heterófilos y una reducción en el de linfocitos en respuesta a la administración de hormonas corticoides. Estos resultados han permitido utilizar el número de heterófilos como un criterio válido para evaluar la respuesta de las aves ante condiciones o situaciones de estrés (Zulkifli y Siegel, 1995; Borges, 1977; Borges *et al.*, 2003). Por otra parte, el número de eosinófilos aumenta en casos de edema y dermatitis (Maxwell *et al.*, 1979).

La bolsa de *Fabricio* en las aves jóvenes parece ser necesaria para la producción de linfocitos (Glick y Sato, 1964); sin embargo, la bursa y el timo involucionan al madurar las aves y la respuesta inmunitaria en el caso de aves adultas, depende del bazo y de los nódulos linfáticos periféricos. La mayoría de los estudios más recientes, dirigidos a evaluar la respuesta inmune de las aves alimentadas con distintos tipos de grasa dietética, están referidos a la respuesta inmune humoral y celular (Fritsche *et al.*, 1991; Sijben *et al.*, 2000; Wang *et al.*, 2000; Babu *et al.*, 2005). La medición de esta respuesta es considerada más apropiada para evaluar el estatus inmunológico de las aves ante antígenos específicos, aunque los leucocitos parecen estar involucrados en la fagocitosis de agentes infecciosos (Sturkie, 1986). Lucas y Jamroz (1961) reportan valores de 29,4% de leucocitos; 76,1% de linfocitos; 13,3% de heterófilos; 2,5% de eosinófilos; 2,4% de basófilos y 5,7% de monocitos, en gallinas Leghorn blancas adultas. La literatura no reporta valores referenciales normales para las gallinas Hy-Line.

Aunque las respuestas obtenidas en cuanto al número total y de los distintos tipos de leucocitos no responden a un patrón definido, lo cual dificulta su interpretación, es claro que la dieta basal contiene la suficiente cantidad de nutrientes requerida para lograr una adecuada producción de leucocitos y, esta cantidad disminuyó significativamente con cada nivel de grasa adicionada, independientemente de su composición, aunque la disminución en términos absolutos no parece ser importante. El mecanismo

por el cual la grasa adicional ejerce este efecto represor de los leucocitos no es evidente y requiere investigación adicional.

La composición de los aceites parece también influir en la producción de linfocitos de manera distinta. El aceite de pijiguao con 65% de ácido oleico (C18:1), permitió una mayor producción de leucocitos y heterófilos; mientras que este aceite estuvo asociado con el menor número de linfocitos. Las grasas más saturadas (palma y grasa amarilla) produjeron el menor número de leucocitos totales y de heterófilos, pero el aceite de palma permitió la mayor producción de linfocitos. Yaqoob *et al.* (1994) reportaron que niveles elevados de ácidos grasos poliinsaturados (n-3), ácido eicosapentanoico (EPA) y ácido docosahexanoico (DHA) deprimieron marcadamente la proliferación de linfocitos en sangre periférica, en ratas y ratones. Es posible que la síntesis o liberación de las distintas células blancas requieran una composición (o cantidades dietéticas) diferenciales de ácidos grasos. Esta posibilidad podría ser evaluada mediante la determinación del perfil de ácidos grasos de los distintos tipos de leucocitos, medición ésta que no fue incorporada en el presente estudio.

En las aves gallináceas saludables, los linfocitos representan la mayor proporción de leucocitos en sangre (Sturkie, 1986). Sin embargo, en el presente trabajo, el número de heterófilos fue aproximadamente el doble del número de linfocitos. Los heterófilos en las aves, son considerados equivalentes a los neutrófilos en los mamíferos (Harmon, 1998) y, como tal, representan la primera línea de defensa de las aves contra agentes microbianos patógenos, debido a su habilidad para fagocitar y digerir bacterias patógenas (Kogut *et al.*, 1998). En respuesta a estos agentes, la médula ósea moviliza cantidades masivas de heterófilos hacia la circulación sanguínea (Kogut *et al.*, 1994a). Por su parte Kogut *et al.* (1988) administraron linfoquinas (citoquinas derivadas de los linfocitos T) y observaron un aumento de 10 veces el número de heterófilos en sangre.

Estos mismos autores lograron de esta manera, conferir a pollitos recién nacidos una resistencia significativa a infecciones por *Salmonella enteritidis*, respuesta que estuvo mediada por un dramático incremento del número de heterófilos en sangre periférica (Kogut *et al.*, 1994b).

Para comprender la mayor proporción de heterófilos en relación con los linfocitos observados en todas las gallinas bajo experimentación, independientemente del tipo de dieta o nivel de grasa, es importante considerar que la toma de muestras para la determinación de la fórmula leucocitaria, fue llevada a cabo una semana más tarde de la segunda inoculación del virus de la aftosa en la pechuga de las aves. Se ha demostrado que la liberación de los heterófilos de la médula ósea puede ocurrir en apenas 4 h después de la inoculación con un agente estimulante de esta respuesta, como es el caso de las linfoquinas, y puede durar al menos 7 días (Latimer *et al.*, 1988). En nuestro caso, esta segunda inoculación con el virus de la aftosa fue programada con el objetivo de determinar la respuesta inmune humoral secundaria, pero fue precedida por el incremento en el número de heterófilos, observado en todas las aves, por cual, se estimó conveniente desestimar estos resultados y esperar una evaluación posterior bajo condiciones más controladas.

El bazo en las aves es considerado un órgano linfoide secundario (Qureshi *et al.*, 1998) y aunque no constituye una fuente primordial de leucocitos en sangre, es conjuntamente con los nódulos linfáticos, el responsable de las respuestas inmunitarias en las aves (Wang *et al.*, 2000). En nuestros resultados, se observó una amplia variabilidad en las respuestas de las aves a las dietas, aun con la utilización de un mismo tipo de aceite, por lo cual no es posible llegar a conclusiones definitivas. En la mayoría de los tratamientos experimentales se observa una disminución leve del número de linfocitos en el bazo, aunque las 6 dietas mostraron bazos de aspecto

normal, denominado en términos histopatológicos como “sin lesiones aparentes” (SLA).

Si se considera que el aspecto normal del bazo está asociado con una plena funcionalidad de este órgano, entonces el número de linfocitos en sangre, asociado con las dietas antes referidas, puede ser considerado como valores promedios normales para las gallinas bajo estudio. Aunque no es posible, dentro de las limitaciones del presente trabajo establecer qué proporción de los linfocitos en sangre proviene del bazo, es claro que aun dentro de límites normales, en el bazo existe una amplia flexibilidad para producir y almacenar leucocitos. Los factores que podrían participar en la regulación de la respuesta leucocitaria en gallinas ponedoras permanecen sin ser estudiados. Por otra parte, la estructura histológica del bazo puede aparentemente, no tener correspondencia con la población de leucocitos en sangre en un momento dado.

5.9. Respuesta inmune primaria

Los lípidos de la dieta afectan la respuesta inmunológica de las aves; este efecto varía dependiendo de la composición de los ácidos grasos (Guo *et al.*, 2004) y de la cantidad de grasa de la dieta (Fritsche *et al.*, 1991b). Los ácidos grasos saturados parecen ejercer un efecto más moderado, o ninguno, que los ácidos grasos poliinsaturados (Prickett *et al.*, 1982). No todos los ácidos grasos poliinsaturados parecen tener el mismo efecto sobre el sistema inmune. El aceite de pescado, con alto contenido de ácidos grasos omega-3 de origen marino, en bajas cantidades, estimula la respuesta inmune en pollos de engorde y, estos ácidos grasos pueden ser inmunosupresores a elevadas concentraciones en la dieta (Korver y Klasing, 1977; Wang *et al.*, 2000), posiblemente debido a su alto contenido de C22:5(n-3) y C22:6(n-3) del aceite de pescado, que actúan como inhibidores de las síntesis de PGE₂ (Culp *et al.*, 1979; Codde *et al.*, 1985). Igualmente,

aceites poliinsaturados como el aceite de maíz, que contienen un alto contenido de C18:2(n-6) pueden reducir la respuesta inmune celular, al aumentar la producción de PGE₂ (Guao *et al.*, 2004).

Korver *et al.* (1998) no observaron efectos en la respuesta inmune de pollos de engorde ante la *Salmonella tiphimurium* utilizando dietas con 2% de aceite de maíz. Por su parte Sijben *et al.* (2000), reportaron una mayor respuesta inmune humoral en gallinas con una dieta enriquecida en C18:2(n-6) mediante la adición de 7% de aceite de girasol. Nuestros datos parecen indicar que una mayor respuesta inmune humoral en las gallinas parece requerir una cantidad superior al 2% de aceite de maíz, pero no mayor al 6%. El nivel óptimo requerido entre estos dos límites debe ser determinado. En este sentido, Guo *et al.* (2004) previenen que debido a una mayor producción de PGE₂ inducida por el C18:2(n-1) del aceite de maíz, la administración prolongada de este aceite podría eventualmente comprometer la función inmunitaria en las aves. Esta hipótesis, sin embargo, requiere validación experimental.

El aceite de pescado tampoco mostró una producción de anticuerpos ni menor o mayor a la dieta con cero inclusión de aceite, lo cual contradice reiterados reportes que señalan un efecto beneficioso del aceite de pescado sobre la respuesta inmune de las aves (Prickett *et al.*, 1982; Fritsche *et al.*, 1991b; Guao *et al.*, 2004). El perfil de ácidos grasos del aceite de pescado utilizado evidenció una alta proporción de saturados y aunque no fueron cuantificados los ácidos grasos omega-3, que pudieran estar presentes pudieron sufrir daños por el proceso de almacenamiento. Sin embargo, otros autores tampoco han observado efectos estimulatorios de la respuesta inmune, al utilizar cantidades variables de aceites de pescado (Korver *et al.*, 1998) y otros han reportado disminuciones en la respuesta inflamatoria en pollos de engorde, en respuesta a dietas con aceite de pescado rico en ácidos grasos poliinsaturados omega-3(n-3) (Korver *et al.*, 1977).

Wang *et al.* (2000) demostraron los efectos de la fuente de grasa sobre la respuesta inmune. En gallinas alimentadas con el 5% de aceite de linaza y aceite de pescado en la dieta, elevaron la proporción de inmunoglobulinas M (IgM) más los linfocitos en el bazo; sin embargo, el aceite de pescado solamente incrementó la concentración de la IgG en el suero. Además el crecimiento del timo, bazo, y bolsa de *Fabricio* fue impactado significativamente por la cantidad de ácidos grasos poliinsaturados en la dieta y la proporción de linolénico y linoléico.

CONCLUSIONES

1. El comportamiento productivo de las gallinas no fue afectado por las dietas experimentales. En general, se observó que la producción de huevos de las gallinas que consumieron dietas con aceite de pijiguao fue similar a la palma y superior a las otras fuentes utilizadas, durante el periodo experimental evaluado.
2. No se apreciaron efectos de las diferentes fuentes lipídicas sobre los parámetros evaluados para calidad de los huevos. El aceite de pijiguao por ser crudo, fue una fuente superior de pigmentos carotenoides.
3. Se determinó que los valores más altos de colesterol, triglicéridos, HDLc y LDLc correspondieron a las dietas que contenían grasa amarilla y el aceite de pijiguao mostró efectos similares a los otros aceites evaluados.
4. Se evidenció que las gallinas con dietas con pijiguao y grasa amarilla depositaron más lípidos en las yemas. En el músculo de la pechuga la mayor cantidad grasa se encontró en las gallinas que consumieron dietas con aceite de pescado, seguido por el aceite de pijiguao.

5. No se observaron efectos significativos sobre la fertilidad de los huevos con la inclusión en las dietas de las diferentes fuentes de lípidos usadas, al igual que el peso de los pollitos de un día de nacidos.
6. La mayor producción de anticuerpos contra el antígeno A24 en el suero, fue observada en las gallinas ponedoras que consumieron dietas con aceite de pijiguao y maíz.
7. En relación con los parámetros hematológicos se evidencia un efecto significativo en la mayoría de las variables evaluadas, sin embargo, dentro de rangos compatibles con un buen estado de salud del ave.
8. El aceite de pijiguao y las otras fuentes de aceites evaluadas, no generaron efectos negativos sobre las variables cardiacas estudiadas.
9. La presencia de áreas sudanofílicas en la superficie interna de la aorta se observó en todas las fuentes de aceites y solo el pescado generó mayor afinidad a la coloración.

El aceite de pijiguao con 63% de C18:1, fuente de pigmentos carotenoides puede ser incluido hasta en un 9% en dietas de gallinas ponedoras, sin afectar los parámetros productivos, inmunológicos y cardiovasculares, así como otras variables fisiológicas que puedan alterar el estado saludable de estas aves.

BIBLIOGRAFÍA

- Abilés, J.; Ramón, A.N; Moratalla, G.; Pérez-Abud, R.; Moron, J. y Ayala, A. 2009. Efectos del consumo de aceites termo-oxidados sobre la peroxidación lipídica en animales de laboratorio. *Nutr. Hosp.* v.24 n4.
- A.O.A.C. 1984. Official Methods of Analysis of Association of Official Analytical Chemist. 15 Ed. Washington, DC. USA.
- Ahn, D.U.; Sell, J.L.; Jo C.; Chamruspollert, M.; Jeffrey, M. 1999. Effect of dietary conjugated linoleic acid on the quality characteristics of chicken eggs during refrigerated storage. *Poult. Sci.*, 8:922-928.
- Ajuyah, A.O.; Cherian, G.; Wang, Y.; Sunwoo, H.; Sim, J.S. 2003. Maternal dietary FA modulate the long-chain n-3 PUFA status of chick cardiac tissue. *Lipids*, 38: 1257-1261.
- Al-Sultan, S.I. 2005. Effect of dietary fish oil on production traits and lipid composition of laying hens. *Int. J. Poult. Sci.*, 4: 586-588.
- Al-Othman, A.A. 2000. Growth and lipid metabolism responses in rats fed different dietary fat sources. *Int. J. Food Sci. Nutr.*, 51:159-67.
- An, B.K.; Nishiyama, H.; Tanaka, K.; Ohtani, S.; Iwata, T.; Tsutsumi, K 1997. Dietary safflower phospholipid reduces liver lipids in laying hens. *Poult. Sci.*, 76:689-95.
- Anderson, D.; MacIlsac, J.; Daniel, M.; Mackinnon, T.; Budgell, K. 2008. Evaluating the effects of crab meal, Carophyll Red, and Carophyll

- Yellow in laying hen diets on egg yolk pigmentation and production performance. *Can. J. Anim. Sci.* 637-640.
- Antar, R.S.; Harms, R.H.; Shivazad, M.; faria, D.E; Russell, G.B. 2004. Performance of comercial laying hens when six percent corn oil is added to the diet at various ages and with different levels of tryptophan and protein. *Poult. Sci.*, 83:447-455.
- Ansari, R.; Azarbayejani, A.; Ansari, S.; Asgar, S.; Gheisari, A. 2006. Production or egg enriched with omega-3 fatty acids in laying hens. *A.R.Y.A. J.*, 1:242-246.
- Aquerreta, A.Y. 2000. Pescados. En: Astiasarán, I., Martinez, J.A. (Eds.). *Alimentos composición y propiedades*. 2^{da} edición. Mc Graw-Hill-interamericana, Madrid. 29-52 p.
- Augustyn, R.; Barteczko, J.; Smulikowska, S. 2006. The effect of feeding regular o low – linolenic acid linseed on laying performance and total cholesterol content in eggs. *J Anim. Feed Sci.*, 15:103-106.
- Aydin, R.; Pariza, M.W.; Cook, M.E. 2001. Olive Oil Prevents the Adverse Effects of dietary conjugated linoleic acid on chick hatchability and egg quality. *J. Nutr.*, 131:800-806.
- Aymond, W.M.; Van Elswyk, M.E. 1995. Yolk thiobarbituric acid reactive substances and n-3 fatty acids in reponse to whole and ground flaxseed. *Poult. Sci.*, 74:1358-1394.
- Babayan, V.K. 1987. Specialty lipids and their biofunctionality. *Lipids*, 22:417-420.
- Bacon, W.L.; Leclercq, B.; Blum, J.C. 1978. Difference in metabolism of very low density lipoprotein from laying chicken hens in comparison to immature chicken hens. *Poult. Sci.*, 57:1675-86.
- Baiao, N.C.; Lara, L.J.C. 2005. Oil and fat in broiler nutrition. *Brazil. J. Poult. Sci.*, 7:129-141.

- Baldizán, G.; Oviedo, M.; Michelangeli, C.; Vargas, R.E. 2010. Effects of peach palm oil on performance, serum lipoproteins and haemostasis in broilers. *Br. Poult Sci.*, 3:690-696.
- Bang, H.O.; Dyerberg, J.; Hjerne, N. 1976. The composition of food consumed by Greenland Eskimos. *Acta Med. Scand.*, 200:69-73.
- Baucells, M.D.; Crespo, N.; Barroeta, A.C.; López-Ferrer, S; Grashorn, M.A. 2000. Incorporation of different polyunsaturated fatty acids into eggs. *Poult Sci.*, 78: 51-59.
- Bell, D.J.; Freeman, B.M. 1971. Physiology and Biochemistry of the Domestic Fowl. Academic Press Inc., Ltd. London, UK. Pp. 1352–1385
- Bensadoun, A. 1991. Lipoprotein lipase. *Ann. Rev. Nutr.*, 11:217-237.
- Bergmann, I. 2000. Fiebre Aftosa. Instrumentos Seroepidemiológicos para evaluar actividad viral. Manual I-ELISA 3ABC, EITB-Ensayo Inmunoenzimático de Electrotransferencia. OPS/OMS. *Centro Panamericano de Fiebre Aftosa*. 16:1-63.
- Bimbo, A.P. (1999). Pautas para la clasificación del aceite de pescado comestible. A & G. 36, 410-421.
- Bohnsack, C.R.; Harms, R.H.; Merkel, W.D.; Russell, G.B. 2002. Performance of commercial layers when fed diets with four contents of corn oil or poultry fat. *J. Appl. Poult. Res.*, 11: 68-76.
- Bozkurt, M.; Cabuk, M.; Alcicek, A. 2008. Effect of dietary fat type on broiler breeder performance and hatching egg characteristics. *J. Appl. Poult. Res.* 17: 47-53.
- Brake, J.T. 1993. Recent advances in induced molting. *Poult. Sci.*, 72: 929-931.

- Brindley, D. 1984. Digestion, absorption and transport of fats: general principles. In: *Fats in Animal Nutrition*. Pp.85-103.
- Bujo, H.; Yamamoto, T.; Hayashi, K.; Hermann, M.; Nimpf, J.; Schneider, W.J. 1995. Mutant oocytic low density lipoprotein receptor gene family member causes atherosclerosis and female sterility. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 92:9905-9909.
- Butterwith, S.C. 1988. Avian adipose tissue: growth and metabolism. In: *Leanness in Domestic Birds*. Pp. 203-222.
- Cachaldor, P.; Gracia-Rebollar, P.; Alvarez, C.; de Blas, J.C.; Méndez, J. 2008. Effect of type and level of basal fat and level of fish oil supplementation on yolk fat composition and n-3 fatty acids deposition efficiency in laying hens. *J. Anim. Feed Sci. and Techn.*, 141:104-114.
- Calder, P.C.; 1998a. Immunoregulatory and antiinflammatory effects of n-3 polyunsaturated fatty acids. *Braz. J. Med. Biol. Res.*, 31:467-490.
- Calder, P.C. 1998b. Eicosapentanoic and decosahexanoic acids alter rat spleen leukocyte fatty acid composition and prostaglandins E2 production but have different effects on lymphocyte functions and cell-mediated immunity. *Lipids*, 33:171-180.
- Calder, P.C. 2001. Polyunsaturated fatty acids, inflammation, and immunity. *Lipids*, 36:1007-1024.
- Calder, P.C.; Grimble, R.F. 2002, Polyunsaturated fatty acids, inflammation and immunity. *Eur. J. Clin. Nutr.*, 56 (Suppl 3):S14-19.
- Calvo, F., 1991. Cosecha, Maduración, sistema y Costo. *Rev. Palmas.*, 12: 47-52.
- Castaldo, D.; Maurice, D. 1988. Phospholipid content of the shell gland and its relationship to eggshell strength. *Poult. Sci.*, 67: 427-433.

- Caston, L.; Leeson, S. 1990. Dietary flax and egg composition. *Poult. Sci.*, 69:1617-20.
- Celebi, Saban; Utlu, N. 2006. Influence of animal and vegetable oil in layer diets on performance and serum lipid profile. *Inter. J. Poult. Scie.* 5(4): 370-373.
- Cherian, G. 2007. Metabolic and cardiovascular diseases in poultry: role of dietary lipids. *Poult. Sci.*, 86:1012-1016.
- Cherian, G. 2008. Egg quality and yolk polyunsaturated fatty acid status in relation to broiler breeder hen age and dietary n-3 oils. *Poult. Sci.*, 87:1131-1137
- Cherian, G.; Sim, J.S. 1993. Net transfer and incorporation of yolk n-3 fatty acids into developing chick embryos. *Poult. Sci.*, 72:98-105.
- Cherian, G.; Sim, J.S. 1992. Preferential accumulation of n-3 fatty acids in the brain of chicks from eggs enriched with n-3 fatty acids. *Poult. Sci.*, 71:1658-1668.
- Chin, S.F.; Liu, W.; Storkson, J.M.; Ha, Y.L.; Pariza, M.W. 1992. Dietary sources of conjugated dienoic isomers of linoleic acid, a newly recognized class of anticarcinogens. *J. Food Compos. Anal.*, 5:185-197.
- Chouaib, S.; Chatenoud, L.; Klatzmann, D.; Frazelizi, D. 1985. The mechanisms of inhibition of human IL-2 production. PGE2 induction of suppressor T lymphocytes. *J. Immunol.*, 132:1851-1857.
- Clamp, A.G. ; Ladha, S.; Clark, D.C. ; Grimble, R.F. ; Lund, E.K. 1997. The influence of dietary lipids on the composition and membrane fluidity of rat hepatocyte plasma membrane. *Lipids*, 32, 179–184.
- Coston, L.; Leeson, S. 1990. Dietary flax and egg composition. *Poult. Sci.*, 69:1617-1620.

- Crespo, N.; García, E.E. 2001. Dietary fatty acid profile modifies abdominal fat deposition in broiler chickens. *Poult. Sci.* 80. 71-78.
- Cruickshank, E.M. 1934. The composition of the egg fat and depot fat of the fowl as affected by the ingestion of large amounts of different fats. *Biochem. J.*, 28:965-2977.
- Dashti, N.; Kelley, J.L.; Thayer, R.H.; Ontko, J.A. 1983. Concurrent inductions of avian hepatic lipogenesis, plasma lipids, and plasma apolipoprotein B by estrogen. *J. Lipid Res.*, 24:368-80.
- De Pablo, M.A ; Alvarez de Cienfuegos, G. 2000. Modulatory effects of dietary lipids on immune system functions. *Immunol. Cell. Biol.*, 78:31-39.
- Devereux, R.B.; Alonso, D.R.; Lutas, E.M.; Gottlieb, G.J.; Campo, E.; Sach, I.; Reychek, N. 1986. Echocardiographic assessment of left ventricular hypertrophy: comparison to necropsy findings. *Am. J. Cardiol.* 57:450–458.
- Devereux, R. B.; Reychek, N. 1977. Echocardiographic determination of left ventricular mass in man: anatomic validation of the method. *Circulation* 55:613–618.
- Dixon, J.L.; Furukawa, S.; Ginsberg, H.N. 1991. Oleate stimulates secretion of apolipoprotein B-containing lipoproteins from Hep G2 cells by inhibiting early intracellular degradation of apolipoprotein *Br. J. Biol. Chem.*, 266:5080-5086.
- Drackley, J.K. 2000. Lipid Metabolism. In: J.P.F. D’Mello (Ed). *Farm Animal Metabolism and Nutrition*. United Kingdom. Pp. 97-118.
- Einzig, S.; Staley, N.A.; Mettler, E.; Nicoloff, D.M.; Noren, G.R. 1980. Regional myocardial blood flow and cardiac function in a naturally

- occurring congestive cardiomyopathy of turkeys. *Cardiovasc. Res.* 14:396–407.
- El-Afifi, Sh.F.; Hemed, A.A.; Gamal, S. 2008. Effect of dietary fatty acids content on laying performance and hatchability of dandrawi and fayoumi layers. *Egypt Poult. Sci.* , 28: 311-326.
- El-Husseiny, O.M.; Abd-Elsamee, M.O.; Hassane, M.I.; Omara, I.I. 2008. Response of egg production and egg shell quality to dietary vegetable oils. *Inter. J. of Poult. Sci.* 7(10): 1022-1032.
- El-Husseiny, O.M.; Soliman, A.Z.; Abd-Elsamee, M.O.; Omara, I.I. 2002. Influence of dietary lipid sources and levels on laying hen performance, egg quality and nutrients utilization. *Egypt. Poult. Sci.*, 22: 763-791.
- Escribano, E. 1991. Fisiología digestiva y metabolismo de las grasas e hidratos de carbono en gallinas ponedoras. Eds. De Blas, C. y Mateos, G.G. MAPA. AEDOS. . Mundi-Prensa. Madrid. Pp. 13-31.
- Evans, A.J.; Bannister, D.W.; Whitehead, C.C.; Siller, W.G.; Wight, P.A. 1977. Changes in plasma lipid and glucose levels during the onset of fatty liver and kidney syndrome in chicks. *Res. Vet .Sci.*, 23:275-279.
- Field, C.J.; Johnson, I.; Pratt, V.C. 2000. Glutamine and arginine: immunonutrients for improved health. *Med. Sci. Sport. Exerc.*, 32:S377-S388.
- Fielding, B.A.; Frayn, K.N. 1998. Lipoprotein lipase and the disposition of dietary fatty acids. *Br. J. Nutr.*, 80:495-502.
- Fisher, C. 1984. Fat deposition in broilers. In: *Fats in Animal Nutrition*. Butterworths. London. Pp. 437-470.
- Fisher, H.; Feigenbaum, A.; Leveille, G.A; Weiss, H.S.; Griminger, P. 2015. Biochemical observations on aortas of chickens. Effect of different fats

- and varying levels of protein, fat and cholesterol. *The J. of Nutr.* 69:163-171.
- Fritsche, K.L.; Cassity, N.A. 1992. Dietary n-3 fatty acids reduce antibody-dependent cell cytotoxicity and alter eicosanoid release by chicken immune cells. *Poult. Sci.*, 71:1646-1657.
- Fritsche, K.L.; Cassity, N.A.; Huang, S.C. 1991a. Effect of dietary fats on the fatty acid compositions of serum and immune tissues in chickens. *Poult. Sci.*, 70:1213-1222.
- Fritsche, K.L.; Cassity, N.A.; Huang, S.C. 1991b. Effect of dietary fat source on antibody production and lymphocyte proliferation in chickens. *Poult. Sci.*, 70:611-617.
- Fritsche, K.L.; Huang, S.C.; Cassity, N.A. 1993b. Enrichment of omega-3 fatty acids in suckling pigs by maternal dietary fish oil supplementation. *J. Anim. Sci.*, 71:1841-1847.
- García P.; Cachaldora, P.; Alvarez, C.; De Blas, J. C.; Méndez, J. 2008. Effect of the combined supplementation of diets with increasing levels of fish and linseed oils on yolk fat composition and sensorial quality of eggs in laying hens. *Anim. Feed Sci. and Techn.* 140: 337-348
- Garret, R.H.; Grisham, Ch.M. 1998. Lipids. Saunder In: *Biochemistry*. 2nd. Edition College Publishing. Virginia. Pp. 238-258.
- Giacopini, M.I.; Bosch, V. (2008). Efecto de dietas con aceites de palma, girasol o pescado sobre la susceptibilidad a la oxidación de las lipoproteínas LDL - HDL del plasma de la rata. *AN. Venez. Nutr.*, 21 (1):20-24.
- Gbemiga, O.A. 2013. Influence of Varying Crude Protein Levels and Balanced Amino Acids on the Performance and Haematological Characteristics of Laying Hens at the Second Phase of Production. *Food and Nutr. Sci.* 4: 11-15.
- Grashorn, M. A. 1995. In pursuit of a low -fat egg. *Feed Mix.*, 3:28-31.

- Griffin, H.D.; Hermier, D. 1988. Plasma lipoprotein metabolism and fattening in poultry. In: *Leanness in Domestic Birds*. Ed. By Leclercq B. And Whitehead C.C. Pp. 175-201.
- Griffin, H.; Acamovic, F.; Guo, K.; Peddie, J. 1989. Plasma lipoprotein metabolism in lean and in fat chickens produced by divergent selection for plasma very low density lipoprotein concentration. *J. Lipid Res.*, 30:1243-1250.
- Grimble, R.F. 1998. Dietary lipids and the inflammatory response. *P. Nutr. Soc.*, 57:555-562.
- Gonzalez, M.J.; Bastida, S.; Jimenez, O.; Lorenzo de, C.; Vergara, G.; Sanchez-Muniz, F.J. 2009. The effect of dietary fat on the fatty acid composition and cholesterol content of the eggs from Hy-line and Warren hens. *Grasas y Aceites*. 60:350-359.
- Goodwin, J.S.; Messner, R.P. 1979. Increased sensitivity to prostaglandin E2 in lymphocytes from subjects over age 70. *J. Clin. Invest.* 64, 434.
- Grobas, S.; Méndez, J.; De Blas, C.; Mateos, G.G. 1999a. Influence of energy, supplemental fat and linoleic acid concentration of the diet on performance of laying hens at two ages. *Br. Poult. Sci.*, 40:681-687.
- Grobas, S.; Méndez, J.; De Blas, C.; Mateos, G.G. 1999b. Laying hen productivity as affected by energy, supplemental fat, and linoleic acid concentration of the diet. *Poult. Sci.*, 78:1542-1551.
- Grobas, S.; Mateos, G.G.; García, M.; Méndez, J.; Álvarez, C., 1999c. Laying hen productivity as affected by energy, supplemental fat, and linoleic acid concentration of the diet. *Poult. Sci.*, 78:1542-1551.
- Grobas, S.; Méndez, J.; Lázaro, R.; Blas, C.; Mateos, G.G. 2001. Influence of source and percentage of fat added to diet on performance and fatty

- acid composition of egg yolk of two strains of laying hens. *Poult. Sci.*, 80:1171-1179.
- Hargis, P.S.; Van Elswyk, M.V. 1993. Manipulating the fatty acid composition of poultry meat and eggs for the health conscious consumer. *World's Poult. Sci. J.* 49:251-264
- Hargis, P.S.; Van Elswyk, M.V.; Hargis, B.M. 1991. Dietary modification of yolk lipid with menhaden oil. *Poult. Sci.*, 70:874-883.
- Hamilton, P.B.; Parkhurst, C.R. 1990. Improved deposition of oxycarotenoids in egg yolks by dietary cottonseed oil. *Poult. Sci.*, 69:354-359.
- Harms, R.H.; Russell, G.B.; Sloan, D.R. 2000. Performance of four strains of commercial layers with major changes in dietary energy. *J. Appl. Poult. Res.*, 9: 535-541.
- Harris, W.S. 1989. Fish oils and plasma lipid and lipoprotein metabolism in humans: a critical review. *J. Lipid Res.*, 30:785-807.
- Havenstein, G.B.; Ferket, P.R.; Scheideler, S.E.; Rives, D.V. 1994. Carcass composition and yield of 1991 vs. 1957 broilers. when fed "typical" 1957 and 1991 broiler diets. *Poultry Sci.*, 73:1795-1804.
- Hayirli, A.; Esenbuga, N.; Macit, M.; Iacin, E.; Karaoglu, M.; Karaca, H.; Yildiz, L. 2005. Nutrition practice to alleviate the adverse effects of stress on laying performance, metabolic profile, and egg quality in peak producing hens: I The humate supplementation. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.*, 18:1310-1319.
- Herber-Mcneill, S.M.; Van Elswyk, M.E. 1998. Dietary marine algae maintains egg consumer acceptability while enhancing yolk color. *Poult. Sci.*, 77:493-496.
- Hermier, D. 1994. En: Proc. 5th European Symp. on the Quality of Eggs and Egg Products. Ed. Y. Nys. pp. 384-390. Tours. Francia.

- Hermier, D. 1997. Lipoprotein metabolism and fattening in poultry. *J. Nutr.*, 127:805-808.
- Hermier, D.; Forgez, P.; Chapman, M.J.; 1985. A density gradient study of the lipoprotein and apolipoprotein distribution in the chicken, *Gallus domesticus*. *Biochim. Biophys. Acta* 836, 105– 108.
- Hermier, D.; Forgez, P.; Williams, J.; Chapman, M.J.; 1989. Alterations in plasma lipoproteins and apolipoproteina associated with estrogen-induced hyperlipidemia in the laying hen. *Eur. J. Biochem.* 184, 109.
- Hermier, D; Dillon, J.D. 1992. Characterization of dietary-induced hypercholesterolemia in the chicken. *Biochim. Biophys. Acta* 1124, 178–184.
- Hrdinka, C., W. Zollisch, W. Knaus, and F. Lettner, 1996. Effect of dietary fatty acid pattern on melting point and composition of adipose tissue and intramuscular fat of broiler carcasses. *Poult. Sci.* 75:208–215.
- Hirata, A.; Nishino, M.; Kimura, T.; Ohtake, Y. 1986. Effects of dietary fats for laying hens in the fatty acid compositions and cholesterol contents of liver, abdominal adipose tissue, plasma and egg yolk lipids. *J. of the Japanese Society of Food Sci. Techn.* 33 631-639.
- Ho, K.J.; Lawrence, W.D.; Lewis, L.A.; Liu, L.B.; Taylor, C.B. 1974. Hereditary hyperlipidemia in nonlaying chickens. *Arch. Pathol.* 98:161-172.
- Horlick, L.; Katz, L.N. 1949. Retrogression of atherosclerotic lesions on cessation of cholesterol feeding in the chick. *J. Lab. Clin. Med.* 34:1427-1472.
- Hulan, H.W.; Proudfoot, F.G.; MacRae, K.B.M. 1980. Effects of vitamins on the incidence of mortality and ADS (“Flip-over”) in broiler chickens. *Poult. Sci.*,59:927-931.
- Hy-line Brown (2007) - Guía de Manejo Comercial pp 3-15.

- Jiang, Z.; Aiin, D.U.; Ladner, L.; Sim, J.S. 1992. Influence of full fat flax and sunflower seeds on internal and sensory quality of yolk. *Poult. Sci.*, 71:378-382.
- Johnson, F. Lipidos. 1995. En Métodos histotecnológicos. Heffes C, Mullick F. Cap. 9, 179-87pp. Instituto de Patología de las Fuerzas Armadas de USA (AFIP). Washington, DC. Pp. 179-87.
- Johnson, R.W.; Escobar, J.; Webel, D.M. 2001. Nutrition and Immunology of Swine. En: Austin J. Lewis and L. Lee Southern (Ed). *Swine Nutr.*, Pp. 545-562.
- Johnston, P.V. 1985. Dietary fat, eicosanoids and immunity. *Adv. Lipid. Res.*, 21:37-86.
- Johnston, P.V. 1988. Lipid modulation of immune responses. En: *Nutrition and Immunology*. R. K. Chandran (Ed.). Alan R. Liss Inc, New York, Pp. 37-86.
- Julian, R. J. 1993. Ascites in poultry. *Avian Pathol.* 22:419–454.
- Katz, A.M. 2006. Should trans fatty acids be viewed as membrane-active drugs? *Atherosclerosis Supplements*. 7:41-42
- Karunajeewa, H.; Hughes, R.J.; McDonald, M.W.; Shenstone, F.S. 1984. A review of factors influencing pigmentation of egg yolks. *World's Poult. Sci. J.*, 40:52-65.
- Kastel, L.; Revajova, V.; Magic, D.; Pistl, J.; Levkut, M.; Bindas, L.; Sajbidor. M.; Horvart, M. 1999. Effects of oil containign n-3 polynsaturated fatty acid (PUFA) on the immune response and growth factors in piglets. *Acta. Vet. Hung.*, 47:325-334.
- Ketels, E.; Groote, G. 1989. Effect of ratio of unsaturated to saturated fatty acids of the dietary lipid fraction on utilization and metabolizable energy of added fats in young chicks. *Poult. Sci.*, 68:1506-1512.

- Kim, J.M.; Hwangbo, J.N.; Choi, J.; Park, H.G.; Yoon, D.H.; Park, E.W.; Lee, S.H.; Park, B.K.; Kim, Y.J. 2007. Effect of dietary supplementation with conjugated linoleic acid, with oleic, linoleic, or linolenic acid, on egg quality characteristics and fat accumulation in the egg yolk. *Poult. Sci.*, 86:1180-1186.
- Kirchgessner, T.G.; Heinzmann, C.; Svenson, K.L.; Gordon, D.A.; Nicosia, M.; Lebherz, H.G. 1987. Regulation of chicken apolipoprotein B: cloning, tissue distribution, and estrogen induction of mRNA. *Gene*, 59:241-51.
- Kirchgessner, M.; Ristic, M.; Kreuzer, M.; Roth, F. X. 1993. Inclusion of fats with high quantities of free fatty acids in broiler diets. 2. Growth as well as quality of carcass, meat and fat as affected by the stepwise substitution of saturated by unsaturated fatty acids. *Arch. Geflügelk.* 57:265–274.
- Kirunda, D.F.K.; Scheideler, S.E.; McKee, S.R. 2001. The efficacy of vitamin E (DL- α -tocopheryl acetate) supplementation in hen diets to alleviate egg quality deterioration associated with high temperature exposure. *Poult. Sci.*, 80:1378-1383.
- Kitabatake, A.; Inoue, M.; Asao, M.; Masuyama, T.; Tanouchi, J.; Morita, T.; Mishima, M.; Uematsu, M.; Shimazu, T.; Hori, M.; Abe, D.B. 1983. Noninvasive evaluation of pulmonary hypertension by a pulsed Doppler technique. *Circulation* 68:302–309.
- Korte, S. M.; Sgoifo, A.; Ruesink, W.; Kwakernaak, C.; va Voorst, S.; Scheele, C.W.; Blokhuis, L. 1999. High carbon dioxide tension (PCO₂) and the incidence of cardiac arrhythmias in rapidly growing broiler chickens. *Vet. Rec.* 145:40–43.
- Kücükersan, K.; Yesilbag D.; Kücükcran S. 2010. Influence of different dietary oil sources on performance and cholesterol content of egg yolk in laying hens. *J. Biol. Environ. Sci.*, 4(12), 117-122.

- Kudzma, D.J.; Claire, F.; DeLallo, L.; Friedberg, S.J. 1975. Mechanism of avian estrogen-induced hypertriglyceridemia: evidence for overproduction of triglyceride. *J. Lipid Res.*, 16:123-33.
- Lanser, A.C.; Emken, E.A. 1987. Comparative deposition of *trans*-10- and *cis*-9-octadecenoates in egg and tissue lipids of the laying hen. *J. Agric. Food Chem.*, 35:248-252.
- Lanser, A.C.; Mount, T.L.; Emken, E.A. 1978. Metabolism of linoleate versus imoclaidate in the laying hen. *Lipids*, 13:103-109.
- Latour, M.A.; Peebles, E.D.; Boyle, C.R.; Doyle, S.M.; pansky, T.; Brake, J.D. 1996. Effects of breeder hen age and dietary fat on embryonic and neonatal broiler serum lipids and glucose. *Poult. Sci.*, 75:695-701.
- Latour, M.A.; Devitt, A.A.; Meunier, R.A.; Stewart, J.J.; Watkinst, B.A. 2000. Effects of conjugated linoleic acid. 1. Fatty acid modification of yolk and neonatal fatty acid metabolism. *Poult. Sci.*, 79:817-821.
- Laziera, C.B.; Wiktorowicza, M.; DiMattiaa, G.E.; Gordonb, D.A.; Binderb, R.; Williamsb, D.L. 1994. Apolipoprotein (apo) B and apoll gene expression are both estrogen-responsive in chick embryo liver but only apoll is estrogen-responsive in kidney. *Mol. Cell Endocrinol.*, 106:187-94.
- Leeson, S.; Summers, J.D. 1997. Feeding programs for laying hens. *Commercial Poult. Nutr.* S. 143-205.
- Leeson, S.; Summers, J.D. 2001. Nutrition of the chicken. 4th edition University Books. Guelph, Otario, Canada. 67 p.
- Leeson S.; Summers J.D. 2005. Commercial poultry nutrition. 3rd ed. University Books. Guelph, Otario, Canada. 78p.

- Legrand, P.D.; Catheline, M.C.; Lemarchal, P. 1997. Inhibiting Δ -9 desaturase activity impairs triacylglycerol secretion in cultured chicken hepatocytes. *J. Nutr.*, 127:249-256.
- Legrand, P.; Hermier, D. 1992. Hepatic Δ -9 desaturation and plasma VLDL level in genetically lean and fat chickens. *Int. J. Obesity*, 16:289-294 .
- Legrand, P.; Lemarchal, P. 1988. Hepatic Δ -9 desaturating activity in generically lean and fat chickens. In: *Leanness in domestic birds*. Ed. By Leclercq B. and Whitehead C.C. Butterworths, London. P.p. 233-234.
- Legrand, P.; Mallard, J.; Bernard-Griffiths, M.A.; Douaire, M.; Russeil, P.; Lemarcha, P. 1987b. Lipid biosynthesis and deposition in genetically lean and fat chickens comparative *in vivo* studies with ^{14}C acetate. *Comp. Biochem. Physiol.*, 86B:791-796
- Legrand, P.; Mallard, J.; Bernard-Griffiths, M.A.; Douaire, M.; Lemarchal, P. 1987a. Hepatic lipogenesis in genetically lean and fat chickens. *In vitro* studies. *Comp. Biochem. Physiol.*, 87B:789-792.
- Lehninger, A.L. 1988. Principios de Bioquímica. Ed. Omega S.A. Barcelona. España.
- Leeson, S. and Summers, J.D. 2001. Nutrition of the Chicken. 4th edition University Books. Guelph, Otario, Canada. 67 p.
- Leslie G.A.; Clem W. L. 1969. Phylogeny of immunoglobulin structure and function. III Immunoglobulin of chicken. *J. Exp. Med.*, 130:1337-1812.
- Li, X.; Nakano, T.; Sunwoo, H.H.; Paek, B.H.; Chae, H.S.; Sim, J S. 1998. Effects of egg and yolk weights on yolk antibody (IgY) production in laying chickens. *Poult. Sci.*, 77:266-270.
- Liu, Y.L.; Li, D.F.L.; Gong, M.; Yi, G.F.; Gaines, A.M.; Carroll, J.A. 2003. Effects of fish oil supplementation on the performance and the immunological adrenal, and somatotropic response of weaned pigs

- after an *Escherichia coli* lipopolysaccharide challenge. *J. Anim. Sci.*, 81:2758-2765.
- Luna, L.G. 1968. Histologic Staining Methods of the Armed Forces Institute of Pathology. 3rd ed. McGraw-Hill Book Co., New York, NY.
- Lloyd, L.; McDonald, B.; Crumpton, E. 1978. Fundamentals of Nutrition. 2nd ed. Freeman and Co., San Francisco, CA. Pp.234 -240.
- Martínez, A.C. 2008. Avances en nutrición de gallina de postura. Congreso CLANA; Colegio Latinoamericano de Nutrición. Animal A.C. Cancún, Quintana Roo, México. 221-224.
- Martinez, L. A.; Jeffrey, J.S.; Odom, T.W. 1997. Electrocardiographic diagnosis of cardiomyopathies in poultry. *Poult. Avian Biol. Rev.* 8:9–20.
- Martinez-Lemus, L.A.; Miller, M.W.; Jeffrey, J.S.; Odom, T.W. 1998. Echocardiographic evaluation of cardiac structure and function in broiler and Leghorn chickens. *Poult. Sci.* 77:1045–1050.
- Martínez, Y.; Valdivié, M.; Estarrón, M.; Solano, G.; Córdova, J. 2010. Perfil lipídico sérico de gallinas ponedoras alimentadas con niveles de semilla de calabaza (*Cucurbita máxima*). *Rev. Cub. De Cien. Agri.*, 4: 399-405.
- Masuyama, T.; Kodama, K.; Kitabatake, A.; Sato, H.; Nanto, S.; Inoue, M. 1986. Continuous-wave Doppler echocardiographic detection of pulmonary regurgitation and its application to noninvasive estimation of pulmonary artery pressure. *Circulation*, 74:484–492.
- Mateos, G.G. 1991. En: *Nutrición y alimentación de gallinas ponedoras*. Eds. de Blas, C. y Mateos, G.G. MAPA. Madrid. AEDOS. Barcelona. Mundi-Prensa. Madrid. Pp. 226-263.
- Mateos, G.G.; Rebollar, P.G.; Medel, P. (1996). Utilización de grasas y productos lipídicos en alimentación animal: grasas puras y mezclas. XII

Curso de especialización FEDNA, Madrid.

<http://www.etsia.upm.es/fedna/publi.htm>.

Mattson, F.H. y Grundy, S.H. 1985. Comparison of effects of dietary saturated, monounsaturated and polyunsaturated fatty acids on plasma lipids and lipoproteins in man. *J. Lipid. Res.* 26(2):194-202.

McLennan, O.L. 1993. Relative effects of dietary saturated, monounsaturated, and polyunsaturated fatty acids on cardiac arrhythmias in rats. *Am J Clin Nutr.* 57:207-212.

Méndez. A., R.E. Vargas y C. Michelangeli. 1998. Effects of Concanavalin A, fed as a part constituent of Jackbean *Canavalia ensiformis*, (L.) seeds, on the humoral immune response and performance of broiler chickens. *Poult. Sci.* 77: 282-289.

Montalto, M.B.; Bensadoun, A. 1993. Lipoprotein lipase synthesis and secretion: effects of concentration and type of fatty acids in adipocyte cell culture. *J. Lipid Res.*, 34:397-407.

Moran, L.; Scrimgeour, K.; Horton, H.; Ohs, R.; Rawn.1994. *Biochemistry*. Neyl Paterson Publishers Prentice-Hall, Inc. Second Edition.

Morrison, W.R.; Smith, L.M. 1964. Preparation of fatty acid methyl esters and dimethylacetals from lipids with boron fluoride-methanol. *J. Lipid. Res.*, 53: 600-608.

Murray, P.R.; Kobayashi, G.S.; Pfaller, M.A.; Rosenthal, K.S. 1997. *Microbiología Médica*. Segunda edición. Harcourt Brace. España. 755 p.

Murty, N.L.; Reiser, R. 1961. Influence of graded levels of dietary linoleic and linolenic acids on the fatty acid composition of hens eggs. *J. Nutr.*, 75:287-294.

- N.R.C. 1994. Nutrient Requirements of Poultry (9^a Ed). National Academy Press. Washington D. C. 155 p.
- Naber, E.C., 1979. The effect of nutrition on the composition of eggs. *Poult. Sci.*, 58:518-528.
- Naber, E.C.; Biggert, M.D. 1989. Patterns of lipogenesis in laying hens fed a high fat diet containing safflower oil. *J. Nutr.*, 119:690-695.
- Nagata, Y.; Ishiwaki, N.; Sugano, M. 1980. Studies on the mechanism of the anti hypercholesterolemia action of soy protein and soy protein-type amino acid mixtures in relation to their casein counterparts in rats. *J. Nutr.*, 112:1614-1625.
- Nettleton, J.A. 1991. Omega-3 fatty acids: comparison of plant and sea food sources in human nutrition. *J. Am. Diet Assoc.*, 91:331-337.
- Nimpf, I.; Schneider, W.J. 1991. Receptor-mediated lipoprotein transport in laying hens. *J. Nutr.*, 121, 1471-1474.
- Nobakht, A. 2011. Effects of using different levels of vegetable oils and their blends on egg yolk fatty acids profile of laying hens. *Adv. Environ. Biol.*, 5:2728-27731.
- Noble, R.C.; Cocchi, M. 1990. Lipid metabolism and the neonatal chicken. *Prog. Lipid Res.*, 29:107-140.
- Noble, R.C. 1998. Manipulation of the nutritional value of eggs. En: *Recent Advances in Animal Nutrition*. Ed. Nottingham Univ. Press, pp. 49-66.
- Noyan, A.; Lossow, W.J.; Brot, N.; Chaikoff, I.L. 1964. Pathway and form of absorption of palmitic acid in the chicken. *J. Lipid. Res.*, 5:538-541.
- Ohtake, Y.; Hoshino, Y. 1976. Influences of dietary fat and oil on the fatty acid distribution in egg yolk lipids in laying hens. *Jap. J. Zootechnical Sci.*, 47:430-440.

- Oliveira, D.D.; Baiao, N.C.; Vasconcelos, S.; Oliveira, B.L.; Quintao, A.M.; Chaves, T. 2011. Effects of the use of soybean oil and animal fat in the diet of laying hens on production performance and egg quality. *Cienc. Agrotec., Lavras.*, 35:995-1001.
- Olkowski, A.A. 2007 Pathophysiology of heart failure in broiler chickens: structural, biochemical, and molecular characteristics. *Poult. Sci.* 86: 999- 1005.
- Olkowski, A. A.; Classen, H.L. 1995. Sudden death syndrome in broiler chickens: a review. *Poult. Avian Biol. Rev.* 6:95–105.
- Ong, J.M.; Kern, P.A. 1989. The role of glucose and glycosylation in the regulation of lipoprotein lipase synthesis and secretion in rat adipocytes. *J. Biol. Chem.*, 264:3177-3182.
- Opie, L. H. (1998). The Heart physiology, from cell to circulation. 3rd ed. Lippincott-Raven Publishers. Philadelphia, PA. P. 637.
- Osorio, J.H.; Flórez, J.D. 2011. Diferencias bioquímicas y fisiológicas en el metabolismo de lipoproteínas de aves comerciales. *Biosalud*, 10:88-98.
- Panigrahi, S.; Hammonds, T.W. 1990. The effects of dietary cottonseed meal and iron-treated cottonseed meal in laying hens. *Br. Poult. Sci.*, 30:641-651.
- Pankey, R.D.; Stadelman, W.J. 1969. Effect of dietary fats on some chemical and functional properties of eggs. *J. Food. Sci.* 34:312-317.
- Pappas, A.C.; Acamovic, T.; Sparks, N.H.C.; Surai, P.F.; McDevitt, R.M.. 2006. Effects of supplementing broiler breeder diets with organoselenium compounds and polyunsaturated fatty acids on hatchability. *Poult. Sci.* 85:1584–1593.

- Pawlush, D.G.; Moore, R.L.; Musch, T.I.; Davison, W.R. 1993. Echocardiographic evaluation of size, function, and mass of normal and hypertrophied rat ventricles. *J. Appl. Physiol.*, 74:2598–2605.
- Peebles, E.D.; Pansky, T.; Doyle, S.M.; Boyle, C.R.; Smith, T.W.; Latour, M.A.; Gerard, P.D. 1998. Effects of dietary fat and eggshell cuticle removal on egg water loss and embryo growth in broiler hatching eggs. *Poult. Sci.*, 77:1522-1530.
- Peebles, E.D.; Zumwatl, C.D.; Doyle, S.M.; Gerard, P.D.; Latour, M.A., Boyle, C.R.; Smith, T.W. 2000. Effects of breeder age and dietary fat source and level on broiler hatching egg characteristics. *Poult. Sci.*, 79, 698-704.
- Peebles, E.D.; Burnham, M.R.; Walzem, R.I.; Branton, S.L.; Gerard, P.D. 2004. Effects of fasting on serum lipids and lipoprotein profiles in the egg-laying hen (*Gallus domesticus*). *Comparative Bioch. And Phy, Part A* 138: 305-311.
- Peterson, I.D.; Jeffery, N.M.; Thies, F.; Sanderson, F.; Newsholme, E.A.; Calder, P.C. 1998. Eicosapentanoic and decosahexanoic acids alter rat spleen leukocyte fatty acid composition and prostaglandins E₂ production but have different effects on lymphocyte functions and cell-mediated immunity. *Lipids*, 33:171-180.
- Place, A.R. 1996. Birds and lipids: Living off the fat of the earth. *Poult. Avian Biol. Rev.*, 7:127-41.
- Plescica, O.J.; Allan, H.S.; Grinwich K. 1975. Subversion of Immune System by Tumor Cells and Role of Prostaglandins (immune surveillance /immunotherapy of cancer / prostaglandin synthetases/indomethacin). *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 72:1848-1851.
- Raes, K.; Huyghebaert, G.; De Sment, S.; Nollet, L. 2002. The deposition of conjugated linoleic acids in eggs of laying hens fed diets varying in fat level and fatty acid profile¹. *J. Nutr.*, 132:182-189.

- Rahim, A. 2005. Type of fatty acids, lipoprotein secretion from liver and fatty liver syndrome in laying hens. *Int. J. Poult. Sci.*, 4:917-9.
- Reid, B.L.; Galaviz-Moreno, S.; Maiorino, P.M. 1987. Evaluation of isopropanol-extracted cottonseed cake for laying hens. *Poult. Sci.*, 66: 1452-1459.
- Revajova, V.; Pistl, J.; Kastel, R.; Bindas, L.; Sr. Magic, D.; Levkut, M.; Bomba A.; Sajbidor, A. 2001. Influencing the immune parameters in germ-free piglets by administration of seal oil with increased content of omega-3 PUFA. *Arch. Tierernahr.*, 54:315-327.
- Romanoff, A.L. 1960. The Avian Embryo. MacMillan Publishing Co., New York. NY.
- Romero, N.; Robert, P.; Masson, L.; Pineda, R. 2000. Composición en ácidos grasos y proximal de siete especies de pescado de Isla de Pascua. *Arch. Lat. Nutr.*, 50(3):304-308
- Rose, M.E.M.; Orlans, E. 1981. Isolation of viral IgY antibodies from yolk of immunized hens. *Immunol. Comm.*, 9:475-493.
- Rozo, D. A; velasco, E. 2007. Ingeniería de automatización para el proceso de esterilización en la extracción de aceite de palma africana de la empresa oleoflores LTDA. *Rev. Colombiana Tecno. Avan.*, 10:82-87.
- Rowaghani, E.; Arab, M.; Nazifi, S.; Bakhtiani, Z. 2007. Effect of canola oil on cholesterol and fatty acids composition of egg-yolk of laying hens. *Int. Poult. Sci.*, 6: 111-114.
- Sadi, I.; Abdullah, E.; Recep, A.; Yilmaz, D.; Fatma, I. 2008. Effects of supplementation of different source and level of oil to diet on lipid peroxidation and some blood parameters in the layer hens. *J. of Anim. and Vet. Adv.* 7:1631-1634.

- SAS Institute. 1990. SAS User's Guide: Statistics. Version 6.12. SAS Institute Inc., Cary, NC.
- Saki, A.A.; Hemati, H.R. 2011. Does nutrition help to alleviate sudden death syndrome in broiler chicken? An overview. *Global Vet.*, 6:262-268.
- Sato, K.; Takahashi, T.; Takahashi, Y.; Shiono, H.; Katoh, N.; Akiba, Y. 1999. Preparation of chylomicrons and VLDL with monoacid-rich triacylglycerol and characterization of kinetic parameters in lipoprotein lipase-mediated hydrolysis in chickens. *J. Nutr.*, 129:126-131.
- Scaife, J. R.; Moyo, J.; Galbraith, H.; Michie, W.; Campbell, V. 1994. Effect of different dietary supplemental fats and oils on the tissue fatty acid composition and growth of female broilers. *Br. Poult. Sci.* 35:107–118.
- Scheideler, S.E.; Froning, G.W. 1996. The combined influence of dietary flaxseed variety, level form, and storage conditions on egg production and composition among vitamin E-supplemented hens. *Poult. Sci.*, 75:1221-1226.
- Sell, J.L.; Choo, S.H.; Kondra, P.A. 1968. Fatty acid composition of egg yolk and adipose tissue as influenced by dietary fat and strain of hen. *Poult. Sci.*, 47:1296-1302.
- Sell, J. L., R. Angel, and F. Escribano, 1987. Influence of supplemental fat on weights of eggs and yolks during early egg production. *Poultry Sci.* 66:1807–1812
- Senkoylu, N.; Samli, H.E.; Akyurek, H.; Agma, A.; Yasar, S. 2005. Use of high level of full-fat soybeans in laying hen diets. *J. Appl. Poult. Res.*, 14:32-37.
- Sheard, C.; Sanford, A.M.; Ostemberg, A.G. 1933. The photocolometer and its use in the clinical laboratory. *Am. J. Clin. Path.*, 3:405-420.

- Shepherd, J.; Packard, C. J.; Patsch, J. R.; Gotto, A. M.; Taunton, O. D. 1978. Effects of dietary polyunsaturated and saturated fat on the properties of high density lipoproteins and the metabolism of apolipoproteins A-I. *J. Clin. Inv.* 61(6): 1582-1592.
- Shivaprasad, H. L.; Jaap, R. G. 1977. Egg and yolk production as influenced by liver weight, liver lipid and plasma lipid in three strains of small bodied chickens. *Poult. Sci.* 56: 1384-1390.
- Sibbald, I.R. 1978. The true metabolizable energy values of mixtures of tallow with either soybean oil or lard. *Poult. Sci.*, 57:473-477.
- Sim, J.S.; Bragg, D.B. 1978. Effect of dietary vegetable oil, cholesterol and soysterols on the lipid concentration and fatty acid composition of egg yolk, liver and serum of laying hens. *Poult. Sci.*, 57:466-472.
- Simpson, C.F.; Harms, R.H. 1983. Aortic atherosclerosis in nonlaying hens with fatty liver syndrome. *Avian Dis.* 27(3):652-659.
- Sklan, D. 1979. Digestion and absorption of lipids in chicks fed triglycerides or free fatty acids: synthesis of monoglycerides in the intestine. *Poult Sci.*, 58:885-889.
- Stadelman, W. J. and O. J. Cotterill. 1977. *Egg Science and Technology*. 2nd ed. AVI Publishing Co., Inc. Westport, Connecticut. USA.
- Stewart, P. 1988. Modifying egg yolk cholesterol in the domestic fowl-a-review. *World's Poult. Sci. J.* 44: 17-29.
- Streinbrecher, U.P.; Zhang, H. y Lougheed, M. 1990. Role of oxidatively modified LDL in atherosclerosis. *Free Radical Biology y Medicine*: 155 – 168.
- Strumia, M.M.; Samples, A.B.; Hart, E.D. 1954. An improved microhematocrit method. *Am. J. Clin. Path.*, 24:1016-1024.
- Sturkie, P.D. 1986. *Avian Physiology*. 4th Ed. Springer-Verlag New York, Inc.

- Summer, J.D.; Slinger, S.J.; Anderson, W.J. 1966. The effect of feeding various fats and fat by-products on the fatty acid and cholesterol composition of the eggs. *Br. Poult. Sci.*, 6:127-134.
- Sunwoo, H.H.; Nakano, T.; Dixon, W.T.; Sim, J.S. 1996. Immune response in chickens against lipopolysaccharide of *Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium*. *Poult. Sci.*, 75:342-345.
- Surai, P.F.; McDevitt, R.M.; Speake, B.K.; Sparks, N.H.C. 1999. Carotenoid distribution in tissues of the laying hen depending on their dietary supplementation. *Proc. Nutr. Soc.*, 58:30A.
- Surai, P.F.; Speake, B.K. 1998. Distribution of carotenoids from the yolk to the tissues of the chick embryo. *J. Nutr. Biochem.*, 9:645-651.
- Sutton, C.C.; Muir, W.M.; Mitchell, G. E. 1984. Cholesterol metabolism in the laying hen as influenced by dietary cholesterol, caloric intake and genotype. *Poult. Sci.* 63:972-980.
- Talebi, A.; Asri-Rezaei, S.; Rozeh-Chai, R.; Sahraei, R. 2005. Comparative studies on haematological values of broiler strains (Ross, Cobb, Arbor-acres and Arian). *Poult. Sci.* 4(8):573-579.
- Tatsumi, N.; Assendelft, O.W.; Naka, K. 2002. International Council for Standardization in Haematology (ICSH) Recommendations for Single-Use Evacuated Containers for Blood Specimen Collection for Hematological Analyses. *Laboratory Hematology* 8:1-6.
- Thies, F.L.D.; Peterson, J.R.; Powell, G.; Nebe-von-Caron, T.L.; Hurst, K.R.; Mathews, E.A.; Newsholme, P.; Calder, P.C. 1999. Manipulation of the type of fat consumed by growing pigs affects plasma and mononuclear cell fatty acid compositions and lymphocyte and phagocyte functions. *J. Anim. Sci.*, 77:137-147.

- Tortuero, F.C. 1966. Utilización de grasas en la alimentación del broiler. Monografías de técnicas ganaderas. Maldonado, Madrid, España.
- Valencia, M.; Fletcher, D.; Waldroup, A.; Waldroup, P.; Watkins, S. 1993. Utilization of crude and refined palm and palm kernel oils in broiler diets. *Poult. Sci.*, 72:2000-2215.
- Van Elswyk, M.; Schake, L.S.; Hargis, P.S. 1991. Research Note: Evaluation of two extraction methods for the determination of egg yolk cholesterol. *Poult. Sci.*, 70:1258-1260.
- Vannier, C.; Deslex, S.; Pradines-Figueres, A.; Ailhaud, G. 1989. Biosynthesis of lipoprotein lipase in cultured mouse adipocytes. I. Characterization of a specific antibody and relationships between the intracellular and secreted pools of the enzyme. *J. Biol. Chem.*, 264:13199-13205.
- Velasco, S.; Ortiz, L.T.; Alzueta, C.; Rebolé, A.; Treviño, J.; Rodríguez, M.L. 2010. Effect of inulin supplementation and dietary fat source on performance, blood serum metabolites, liver lipids, abdominal fat deposition, and tissue fatty acid composition in broiler chickens. *J. Poult. Sci.* 89: 1651-1662.
- Voros, K.J.; Holmes, R.; Gibbs, C. 1990. Anatomical validation of two-dimensional echocardiography in the horse. *Equine Vet. J.* 22:392-397
- Walzem, R.L.; Hansen, R.J.; Williams, D.L.; Hamilton RL. 1999. Estrogen induction of VLDL₂ Assembly in Egg-Laying hens. *J Nutri.*, 129:467S-72S.
- Walzem, R. L.; Watkins, S.; Frankel, E. N.; Hansen, R. J.; German, J. B. 1995. Older plasma lipoproteins are more susceptible to oxidation: A linking mechanism for the lipid and oxidation theories of atherosclerotic cardiovascular disease. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 92:7460-7464.

- Wang, YW. 2001. Omega-3 polyunsaturated fatty acids and chicken immunity. PhD Thesis. Canada: Alberta University. 222 p.
- Wang, Y.W.; Cherian, G.; Sunwoo, H.H.; Sim, J.S. 2000. Dietary polyunsaturated fatty acids significantly affect laying hen lymphocyte proliferation and immunoglobulin G concentration in serum and egg yolk. *Can J Anim Sci* 80: 597-604.
- Wang, Y.W.; Sunwoo, H.H.; Cherian, G.; Sim, J.S. 2004. Maternal dietary ratio of linoleic acid to α -linolenic acid affects the passive immunity of hatching chicks. *Poult. Sci.*, 83:2039-2043.
- Washburn, R.W. 1989. A modification of Folch Method of lipid extraction for poultry. *Poult. Sci.*, 68:1425-7.
- Watkins, B.A. 1991. Importance of essential fatty acids and their derivatives in poult. *J. Nutr.*, 121:1475-1485.
- Wells, R.G. 1968. Egg Quality, A Study of Hen's Egg. Ed. Carter, T.C., British Egg Marketing Board Symposium, Edinburgh. pp. 207-249.
- Welch, V.A.; Borlakoglu, W.J. 1992. Absorption and transport of dietary lipid: Effect on some lipid-related health problems. In: *Fatty acids in foods and their health implications*. Ed. By C. Kuang. Marcel Dekker, Inc. New York. pp.559-612.
- Wideman, R.F.; Bottje, W.G. 1993. Current understanding of the ascites syndrome and future research directions. pp 1–20 *in*: Nutrition and Technical Symposium Proceedings. Novus International, Inc., St. Louis, MO.
- Wiseman, J. 1986. En: *Recent Advances in Animal Nutrition*. Eds. Haresign, W. *et al*. D.J.A. Buttetworths. Londres. . pp. 47-75.

- Wiseman, J.; Salvador, F.; Craigon, J. 1991. Prediction of the apparent metabolizable energy content of fats fed to broiler chickens. *Poult. Sci.*, 70:1527-1533.
- Whitehead, C.C. 1995. Plasma a estrogen and the regulation of egg weight in laying hens by dietary fats. *J.Anim.Feed Sci. and Technol.*, 53:91-98.
- Whitehead, C.C.; Bowman, A.S.; Grimn, H.D. 1991. The effects of dietary fat and bird age on the weights of eggs and egg components in the laying hen. *Br. Poult. Sci.*, 32: 565-574.
- Wu, D. 2004. Modulation of immune and inflammatory responses by dietary lipids. *Curr. Opin. Lipidol.*, 15:43-47.
- Yau, J. C.; Denton, J. H.; Bailey, C. A.; Sams, A. R. 1991. Customizing the fatty acid content of broiler tissues. *Poult. Sci.* 70:167–170.
- Yin, J.D.; Shang, X.G.; Li, D.F.; wang, F.L.; Guan, Y.F.; Wang, Z.Y. 2008. Effects of dietary conjugated linoleic acid on the fatty acid profile and cholesterol content of egg yolks from different breeds of layers. *Poult. Sci.*, 87:284-290
- Yuyama, I.; Aguiar, J.; Yuyama, K.; Clement, C.; Macedo, S.; Fávoro, D.; Afonso, C.; Vasconcellos, M.; Pimentel, S.; Badolato, E.; Vannucchi, H. 2003. Chemical composition of the fruit mesocarp of three peach palm (*Bactris gasipaes*) populations grown in Central Amazonia, Brazil. *International J. of Food Sci. and Nutr.* 54: 49-56.