

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA

LA MOLINA

ESCUELA DE POSTGRADO

MAESTRÍA EN NUTRICIÓN



**“EFECTO DE LA SUPLEMENTACIÓN CON DIFERENTES
FUENTES DE COBRE SOBRE EL COMPORTAMIENTO
PRODUCTIVO, MORFOMETRÍA INTESTINAL Y EL NIVEL DE
COBRE HEPÁTICO EN POLLOS DE CARNE”**

PRESENTADO POR:

OTTO ANGELO ZEA MENDOZA

TESIS PARA OPTAR EL GRADO DE:

MAGISTER SCIENTIAE EN NUTRICIÓN

LIMA - PERÚ

2011

EFFECTO DE LA SUPLEMENTACIÓN CON DIFERENTES FUENTES DE COBRE SOBRE EL COMPORTAMIENTO PRODUCTIVO, MORFOMETRÍA INTESTINAL Y NIVEL DE COBRE HEPÁTICO EN POLLOS DE CARNE.

RESUMEN

Un experimento fue realizado con el objetivo de evaluar el efecto de la suplementación de cobre sobre el comportamiento productivo, los niveles de cobre en el hígado y la morfometría intestinal en pollos de 0 a 40 días de edad. Para tal efecto se emplearon 200 pollos BB machos de la Línea Cobb, distribuidos en cinco tratamientos, con cuatro repeticiones y 10 animales por repetición. El Tratamiento 1 fue la dieta basal con zinc bacitracina (control positivo); el Tratamiento 2 fue la dieta basal sin antibiótico (control negativo), ambas con 10.3 mg/kg de cobre; el Tratamiento 3 fue la dieta basal con sulfato de cobre; el Tratamiento 4 fue la dieta basal con oxiclورو de cobre y el Tratamiento 5 fue la dieta basal con cobre clorado tribásico (CCTB); cada una con 250 mg/kg de cobre suplementado. Los principales parámetros productivos fueron registrados. El peso corporal vivo, la ganancia de peso diario, rendimiento económico y rendimiento de carcasa, no mostraron diferencia estadística significativa ($p > 0.05$) entre tratamientos en el día 40. El índice de conversión y consumo de alimento fueron mejores ($p < 0.05$) en el Tratamiento con sulfato de cobre, sobre los Tratamientos 2 y 1, pero similar a los demás tratamientos con cobre. El mejor nivel de cobre en el hígado ($p < 0.05$) lo obtuvo el Tratamiento 5 (CCTB). Con relación a la morfometría intestinal, la suplementación de cobre tuvo influencia sobre el ancho de vellosidad del duodeno caudal, así como en la altura de vellosidad en el yeyuno comparado a los grupos que no recibieron cobre suplementario. Se concluye que la suplementación con 250 ppm Cu proveniente del sulfato de cobre mejoró la conversión alimenticia y que la morfología intestinal fue influenciada por la suplementación de cobre independientemente de la fuente de cobre.

EFFECT OF THE SUPPLEMENTATION WITH DIFFERENT COPPER SOURCES ON BROILER PERFORMANCE, INTESTINAL MORPHOLOGY AND LIVER COPPER CONTENTS.

SUMMARY

An experiment was conducted to evaluate the effect of different copper sources on broiler performance, intestinal morphology and liver copper contents using 200 one-day old Cobb 500 male chicks randomly distributed into five groups of 40 chicks each. Each group received, during 40 days, one of the following dietary treatments: T1, basal diet containing antibiotic (positive control); T2, basal diet without antibiotic (negative control), T3, as T2 + 250 ppm Cu from copper sulphate; T4, as T2 + 250 ppm Cu from copper oxychloride, and T5, T2 + 250 ppm Cu from tribasic copper chloride. The results showed that final body weight, body weight daily gain, feed benefit-cost ratio and carcass yield were not significantly influenced ($P>0.05$) by the dietary treatments. The lowest feed intake and the best feed efficiency were observed in the copper sulphate-supplemented group but the latter was not different of the two other copper sources. Copper content in livers from broilers that were fed the tribasic copper chloride- supplemented group was significantly higher ($P<0.05$) than the ones that were on other treatments. With regards of the intestinal morphology, treatments that contained supplemental copper tended to influence villus width in the caudal duodenal area and villus height in the jejunum area. It is concluded that the supplementation with 250 ppm Cu from copper sulphate improved feed efficiency and that intestinal morphology was influenced by the copper supplementation regardless the source.

LS1.
24-T
C-1

ÍNDICE

Página

ACTA DE SUSTENTACIÓN.

DEDICATORIA.

AGRADECIMIENTOS.

RESUMEN.

SUMMARY.

I	INTRODUCCIÓN.	1
II	REVISIÓN DE LITERATURA.	3
	2.1 Funciones del cobre.	3
	2.2 Interrelaciones entre el metabolismo del cobre y hierro	7
	2.3 Absorción, transporte y utilización de cobre en los tejidos.	7
	2.4 Excreción del cobre.	9
	2.5 El cobre y su rol en la inmunidad.	9
	2.6 Intestino delgado	12
	2.6.1 Estructura del intestino delgado.	12
	2.7 Efecto del cobre sobre la fisiología intestinal.	13
	2.8 Requerimiento nutritivo del cobre para la ganancia de peso	16
	2.8.1 Deficiencia de cobre	17
	2.8.2 Exceso de cobre	19
	2.9 Modos de acción del cobre como promotor de crecimiento	20
	2.10 El cobre y el colesterol.	21
	2.11 Biodisponibilidad del cobre.	22

32033

2.12	Factores que afectan la biodisponibilidad del cobre.	24
2.13	Fuentes de cobre sobre la alimentación de aves.	27
III	MATERIALES Y MÉTODOS.	32
3.1	Lugar de ejecución.	32
3.2	Animales experimentales.	32
3.3	Instalaciones y equipos.	32
3.4	Tratamientos.	32
3.5	Sanidad.	39
3.6	Mediciones.	39
3.6.1	Parámetros productivos	39
3.7	Metodología de la morfometría intestinal	40
3.7.1	Mediciones morfométricas	42
3.8	Cobre en hígado	44
3.9	Diseño experimental.	44
IV	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.	46
V	CONCLUSIONES.	60
VI	RECOMENDACIONES.	61
VII	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.	62
VIII	ANEXOS.	73

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro		Página
Cuadro 1:	Enzimas y otras proteínas que se unen al cobre en mamíferos.	6
Cuadro 2:	Composición porcentual y valor nutritivo de las dietas experimentales empleadas en la etapa de inicio (0 a 10 días)	34
Cuadro 3:	Composición porcentual y valor nutritivo de las dietas experimentales empleadas en la etapa de crecimiento (11 a 22 días)	35
Cuadro 4:	Composición porcentual y valor nutritivo de las dietas experimentales empleadas en la etapa de acabado (23 a 40 días)	36
Cuadro 5:	Composición de la premezcla de vitaminas y minerales.	37
Cuadro 6:	Cantidad de cobre en las dietas experimentales.	38
Cuadro 7:	Efecto de la fuente de cobre sobre el comportamiento productivo de pollos (0-40 días)	47
Cuadro 8:	Retribución económica por pollos según las dietas suministradas	50
Cuadro 9:	Efecto de las fuentes de cobre la concentración de cobre en el hígado.	51
Cuadro 10:	Efecto de la fuente de cobre sobre la altura, ancho, área de vellosidad, profundidad de cripta, número de células caliciformes, grosor de lámina propia y relación altura con profundidad de cripta de las vellosidades intestinales del duodeno craneal.	53

- Cuadro 11:** Efecto de la fuente de cobre sobre la altura, ancho, área de vellosidad, profundidad de cripta, número de células caliciformes, grosor de lámina propia y relación altura con profundidad de cripta de las vellosidades intestinales del duodeno caudal. 55
- Cuadro 12:** Efecto de la fuente de cobre sobre la altura, ancho, área de vellosidad, profundidad de cripta, número de células caliciformes, grosor de lámina propia y relación altura con profundidad de cripta de las vellosidades intestinales del yeyuno. 57

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO	Página
I. Efecto de la fuente de cobre sobre el peso vivo de pollos (g) a la edad de 0, 7, 14, 21, 28, 35, y 40 días.	74
II. Peso de los pollos a la edad de 0, 7, 14, 21, 28, 35 y 40 días de edad	75
III. Curva de crecimiento de pollos.	76
IV. Efecto de las fuentes de cobre sobre el consumo de alimento, rendimiento de carcasa y ganancia diaria de peso.	77
V. Consumo de alimento semanal	78
VI. Rendimiento de carcasa	79
VII. Ganancia diaria de peso.	80
VIII. Efecto de las fuentes de cobre sobre la conversión alimenticia de pollos en los períodos de 0-21 días, 0-28 días, 0-35 días y 0-40 días.	81
IX. Conversión alimenticia	82
X. Concentración de cobre en el hígado de pollos	83
XI. Medidas del duodeno craneal.	84
XII. Medidas del duodeno caudal .	85
XIII. Medidas del yeyuno.	87

XIV. Análisis de varianza para conversión alimenticia (0-21 días).	88
XXV. Análisis de varianza para conversión alimenticia (0-40 días).	89
XVI. Análisis de varianza para ganancia diaria (0-21 días).	90
XVII. Análisis de varianza para ganancia diaria (21-40 días)	91
XVIII. Análisis de varianza para cobre en el hígado.	92
XIX. Análisis de varianza para peso en el día 0.	93
XX. Análisis de varianza para peso en el día 21.	94
XXI. Análisis de varianza para peso en el día 28.	95
XXII. Análisis de varianza para peso en el día 35.	96
XXIII. Análisis de varianza para peso en el día 40.	97
XXIV. Análisis de varianza para consumo total.	98
XXV. Análisis de varianza para rendimiento de carcasa.	99
XXVI. Análisis de varianza para retribución económica.	100
XXVII. Análisis de varianza para consumo diario.	101
XXVIII. Análisis de varianza para altura de vellosidad en duodeno craneal	102
XXIX. Análisis de varianza para altura de vellosidad en yeyuno.	103

I INTRODUCCIÓN

En avicultura comercial es común el uso de promotores de crecimiento, los cuales al ser incluidos en la premezcla, aseguran una eficiente conversión alimenticia y ganancia de peso en pollos de carne. Los antibióticos son, por lo general, los principales promotores de crecimiento que se han venido usando para cumplir con este objetivo productivo. No obstante, en la actualidad, existe una fuerte tendencia a disminuir su uso debido a que su empleo indiscriminado puede generar a mediano plazo resistencia a las enfermedades en la población humana. Debido a esto, una búsqueda constante se viene realizando con la finalidad de encontrar alternativas al uso de antibióticos en la industria de producción animal.

El cobre, por otro lado, es un micromineral esencial debido a que interviene en numerosas actividades fisiológicas del ave como son el metabolismo del hierro, crecimiento y desarrollo del colágeno y en la hematopoyesis. Normalmente el requerimiento de cobre según el NRC es de 8 mg/kg, no obstante según numerosas investigaciones cuando se agrega en la premezcla a niveles mayores de los recomendados, entre 125 a 250 mg/kg, presenta actividad como promotor de crecimiento y antimicrobiano. Es por esto que se viene generando mucho interés en el uso del cobre, como alternativa al empleo de antibióticos para promover el crecimiento de las aves y mantener la salud del tracto gastrointestinal.

Un conocimiento que se debe tener en cuenta antes de la inclusión de cobre o cualquier mineral, es que las diferentes características, como el tamaño de grano, solubilidad, potencial oxidativo de las fuentes de cobre, pueden tener influencia sobre su biodisponibilidad, y por tanto, en su actividad sobre el animal y sus parámetros productivos. Al respecto, diversos estudios se han venido realizando para determinar la fuente ideal así como la cantidad con la que se le debería incorporar en la dieta animal.

En el mercado existen diferentes productos que se usan como fuente de cobre, entre ellos destacan productos orgánicos e inorgánicos como el sulfato de cobre, el cobre clorado tribásico (CCTB) y el oxiclorigenato de cobre. El sulfato de cobre es el modelo estándar de

utilización de cobre, sin embargo su efecto sobre el crecimiento ha mostrado variación entre las investigaciones. Por otro lado, existe poca información acerca del uso del CCTB y el oxiclورو de cobre como fuentes de cobre, y del efecto de comparar estas fuentes a nivel experimental en condiciones ambientales de nuestro país para su uso comercial. Además, debido a que el cobre tiene influencia sobre el sistema gastrointestinal, una forma adicional de evaluar su actividad es mediante el análisis de las vellosidades intestinales, así como del contenido de cobre en el hígado de los animales.

Basado en estas informaciones el propósito del presente trabajo es evaluar la suplementación con diferentes fuentes de cobre sobre el comportamiento productivo, morfometría intestinal y el nivel de cobre hepático en pollos de carne.

II REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Funciones del cobre

El cobre (Cu) es un elemento traza esencial para los sistemas vivos debido a que es usado como un cofactor para enzimas claves involucradas en varios procesos bioquímicos fundamentales (Church *et al.*, 2007). La esencialidad del cobre fue demostrada por primera vez por Hart *et al.* (1928) para el crecimiento y la formación de hemoglobina en ratas. Exceptuando el zinc, el cobre es el mineral que activa un mayor número de enzimas (Underwood y Suttle, 2003).

En términos generales, el cobre es necesario para la actividad de las enzimas relacionadas con el metabolismo del Fe, la formación de elastina y colágeno, la producción de melanina y la integridad del sistema nervioso central. Se le necesita para la formación normal de eritrocitos (hematopoyesis), al parecer porque permite la absorción normal de Fe en el conducto gastrointestinal y la liberación de Fe del sistema reticuloendotelial y las células parenquimáticas del hígado al plasma sanguíneo. Esta función se relaciona con la necesaria oxidación del Fe del estado ferroso al estado férrico para la transferencia de los tejidos al plasma. La ceruloplasmina es la enzima que contiene Cu que se necesita para esta oxidación. El Cu se requiere para la formación normal de los huesos, ya que promueve la integridad estructural del colágeno del hueso y para la formación normal de elastina en la aorta y el resto del aparato cardiovascular. Lo anterior tiene relación con la presencia del Cu en la lisoxidasa, la enzima necesaria para la eliminación del grupo ϵ -amino de la lisina en la formación normal de la desmosina y la isodesmosina, grupos de enlace transversal esenciales en la elastina (Church *et al.*, 2007).

El Cu se requiere para la mielinización normal de las células del cerebro y la médula espinal como componente de la enzima citocromo *c* oxidasa, que es esencial para la formación de mielina (Church *et al.*, 2007).

El cobre se necesita para la pigmentación normal del pelo y la lana, probablemente como componente de las polifeniloxidasas, que catalizan la conversión de tirosina en melanina

y para que se incorporen grupos bisulfuro a la queratina del pelo y la lana (Church *et al.*, 2007). Asimismo, este mineral se encuentra en una serie de metaloenzimas importantes, entre las que se encuentran la citocromo *c* oxidasa (CCO), la dopamina β -hidroxilasa, la superóxido dismutasa, la lisil oxidasa y la Δ^9 -desaturasa.

De las funciones listadas, el principal rol del Cu^{1+} y Cu^{2+} es el de asistir a la catálisis de reacciones de óxido-reducción que involucran oxígeno o varios radicales oxígeno, las cuales usualmente dependen de cofactores que contienen cobre (como citocromo *c* y dopa 6-hidroxy) (Linder y Hazegh-Azam, 1996).

La citocromo *c* oxidasa es la enzima terminal de la cadena de transporte de electrones en la mitocondria (y membranas celulares bacterianas) y el sitio donde el oxígeno es utilizado en la respiración (Linder y Hazegh-Azam, 1996). Uno de los primeros trastornos reconocidos de la deficiencia de cobre en ganado, “sway-back” en corderos jóvenes, se ha relacionado a una pérdida de la actividad de la citocromo *c* oxidasa en la neurona (Underwood y Suttle, 2003).

La superóxido dismutasa (SOD) es usualmente una enzima que contiene cobre y zinc, aunque también se encuentra manganeso y hierro, especialmente en bacterias. El cobre-zinc SOD, está distribuido ampliamente en el citosol de las células eucarióticas, donde se lleva a cabo la dismutación de dos O_2^- a O_2 y H_2O . Sin este grupo de enzimas, el superóxido se convertiría en la forma mucho más destructiva conocida como radical hidroxilo, la cual está implicada en el daño de los lípidos insaturados en las membranas celulares y otras moléculas dentro de las células (Harris, 1992; Linder y Hazegh-Azam, 1996; Underwood y Suttle, 2003).

Las metalotioneínas son pequeños polipéptidos que contienen mucha cisteína y que son expresadas por las células de la mayoría de familias en respuesta a la carga con iones metálicos divalentes de transición, especialmente Zn^{2+} , Cd^{2+} y Cu^{2+} . Se piensa que son sitios para almacén y mecanismos para detoxificación de estos iones metálicos que pueden de otra forma interferir con otras reacciones del metabolismo o catalizar cambios químicos no deseados; por tanto, juega un rol en la resistencia a la toxicidad por metales, incluyendo la toxicidad por cobre (Linder y Hazegh-Azam, 1996; Mejía, 2006).

La ceruloplasmina se encuentra entre aquellas enzimas involucradas en la reacción de fase aguda de la inflamación y en la búsqueda de radicales oxígeno para proteger a las células contra el daño oxidativo. Esta actividad, se suma a su principal función independiente, como es la de transportar cobre a las células a partir del hígado. Una tercera función es la de colaborar en la liberación o unión del hierro almacenado en la transferrina, su principal proteína transportadora en el plasma sanguíneo. La ceruloplasmina tiene actividad de ferroxidasa, y se piensa que puede oxidar Fe^{2+} , liberado desde la ferritina intracelular a través de la reducción y la quelación, y por tanto se puede unir a la transferrina (la cual solo se puede unir al Fe^{3+}) (Linder y Hazegh-Azam, 1996; Mejía, 2006).

La lisil oxidasa (lisina-proteína 6 oxidasa) es otra enzima extracelular que contiene cobre, la cual es crítica para la formación y función del tejido conectivo en todo el cuerpo. Su función es catalizar la unión de las nuevas fibras de colágeno y tropoelastina formadas a través de la deaminación oxidativa de la cadena de lisina en estas proteínas (Klevay, 2000).

La tirosinasa (monofenol monoxidasa) es la enzima que cataliza la degradación de la tirosina hacia el precursor melánico, dopaquinona (dihidroxifenilalanina), a través de la generación del intermediario DOPA (Mejía, 2006). Esta reacción cuando ocurre en los melanocitos, interviene en la síntesis del pigmento de melanina, para la protección contra el exceso de exposición a la luz ultravioleta y para el color del cabello, piel y ojos. La hipopigmentación es una consecuencia de la deficiencia de cobre debido a la tirosinasa limitante (Prohaska y Gybina, 2004).

La Dopamina β -monooxidasa (hidroxilasa), es una enzima clave en la producción de catecolaminas, las cuales están íntimamente involucradas en la transmisión nerviosa en el sistema nervioso central, así como también en la respuesta al estrés mediada por la médula adrenal. Esta, cataliza la hidroxilación de la de la dihidroxifenilamina (dopamina) a norepinefrina (el neurotransmisor simpático), con la ayuda de oxígeno molecular y ascorbato; la norepinefrina puede luego ser metilada para formar epinefrina (Prohaska y Brokate, 1999).

La delta-9 desaturasa de ácidos grasos la cual es la enzima encargada de catalizar la conversión del ácido C18 saturado "ácido esteárico", hacia el ácido C18 monoinsaturado ácido

oleico (Devlin, 2000; Mejía, 2006). El Cuadro 1, resume las principales enzimas en las cuales se encuentra involucrado el cobre.

Cuadro 1: Enzimas y otras proteínas que se unen al cobre en mamíferos

Proteínas Intracelulares

Citocromo *c* oxidasa

Superóxido Dismutasa

Metalotioneína

Dopamina β -oxidasa

Tirosinasa (catecol oxidasa)

Enzima α -amidating

Fenilalanina oxidasa

Diamina oxidasa

Glicoproteína de matriz de cartilago

Proteínas Extracelulares

Ceruloplasmina

Lisil oxidasa

Albumina

Transcupreína

Amino oxidasa

Superóxido Dismutasa extracelular

Metalotioneína extracelular

Factores sanguíneos V y VII

Ferroxidasa II

Fuente: Linder y Hazegh-Azam (1996)

2.2 Interrelaciones entre el metabolismo del cobre y hierro.

Para poder entender mejor la importancia del cobre en el metabolismo de hierro es necesario explicarlo en una sección separada. El hierro que prima en la dieta, es férrico, y su captación depende de su reducción, por un complejo reductasa denominado “complejo paraferitina”. La actividad del complejo paraferitina es dependiente, aun en forma no muy clara de vitamina C. Luego de su reducción por el complejo paraferitina, se capta el hierro ferroso, y se oxida por acción de la cuproenzima con acción ferroxidasa, denominada hephaestina, produciéndose hierro férrico, y éste es transportado dentro del enterocito y momentáneamente almacenado así, por la ferritina tisular (Mejía, 2006).

Posterior a ello, para poder ser transferido a la circulación sanguínea se necesita reducir el hierro en el citosol enterocitario, reacción catalizada por medio de la enzima ferritina-reductasa, dando como resultado la apoferritina y las coenzimas oxidasas. Ya en el plasma, el hierro ferroso se oxida, por las cuproenzimas ferroxidasas I o II, para que pueda ser transferido por la transferrina o la ferritina sérica, a nivel plasmático. Las ferroxidasas, oxidan el hierro, cuando este está dentro de la transferrina, facultando así, el transporte. De acuerdo a lo mencionado, existen 3 ferroxidasas: la tipo I también denominada ceruloplasmina, la tipo II que parece ser de mayor importancia sérica que la tipo I, y la proteína denominada como hephaestina, que corresponde a una proteína transmembranal, a diferencia de sus hermanas expresada en el intestino (Evans y Abraham, 1973; Mejía, 2006).

2.3 Absorción, transporte y utilización de cobre en los tejidos

La solubilización del cobre, como la de otros microelementos (Mn, Fe, Zn), es favorecida por la acidez gástrica (Jondreiville *et al.*, 2002). El cobre es absorbido en todos los segmentos del tracto gastrointestinal. El sitio de absorción de Cu en el conducto gastrointestinal varía entre especies. Para la mayoría de las especies, la absorción ocurre en el intestino delgado superior, pero en ovejas una considerable absorción también ocurre en el intestino grueso. En el caso de los humanos y aves su absorción tiene lugar fundamentalmente en el estómago y duodeno (Mejía, 2006; Linder y Hazegh-Azam, 1996; Banks *et al.*, 2004a).

Es precisamente en el duodeno donde previo a la absorción, se produce la reducción del cobre mediante metaloenzimas reductoras. Esta reducción se produce debido a que el cobre de la dieta se encuentra mayoritariamente en la forma Cu^{2+} , y a que para ser absorbido debe ser reducido a Cu^{1+} por dichas enzimas localizadas en el borde de cepillo de la membrana apical del enterocito (Baker, 2005; Lönnerdal, 2008).

Luego de ser reducido, el cobre atraviesa la membrana apical de la célula intestinal, mediante su principal transportador, la proteína CTR1, la cual actúa por endocitosis o por difusión no dependiente de energía, según se trate de cantidades bajas o elevadas de cobre consumido en la dieta (Linder y Hazegh-Azam, 1996). La proteína CTR1, deja el Cu^{1+} dentro de las células. Cabe destacar que dentro del citoplasma de las células no existe cobre en forma iónica, debido a que el cobre libre reacciona rápidamente con peróxido de hidrógeno para producir el radical hidróxido (Roberts y Sarkar, 2008).

Una vez absorbido, el cobre es transportado hacia el hígado, principalmente por la albúmina, el mayor transportador de cobre iónico en el plasma, pero igualmente por la transcupreína y aminoácidos libres como la histidina (Linder y Hazegh-Azam, 1996; Roberts y Sarkar, 2008). En el hígado, el cobre es, según el estado del animal, ligado a las metalotioneínas para ser almacenado, incorporado a la ceruloplasmina para transportarlo hacia otros órganos o secretado al intestino a través de la bilis (Jondreville, 1992).

En el caso de que sea incorporado a la ceruloplasmina, el cobre puede ser secretado nuevamente en el plasma, creando un nuevo comienzo para la captación de cobre por otros tejidos. Las 2 fases de distribución del cobre luego de entrar a sangre dependen por tanto de 2 enzimas; la transcupreína que permite el ingreso del cobre al hígado y la ceruloplasmina que transporta el cobre desde el hígado a otros tejidos (Linder y Hazegh-Azam, 1996).

Finalmente, en el caso de que el cobre se almacene, ya sea en el hígado o en cualquier otro órgano, se puede producir una transferencia de cobre desde su almacén, las metalotioneínas, a compartimentos específicos a través de unas enzimas presentadoras conocidas como metalochaperones (Prohaska y Gybina, 2004; Prohaska, 2008; Roberts y Sarkar, 2008). Estos metalochaperones ceden el cobre a las futuras cuproenzimas; así por

ejemplo, para la superóxido dismutasa existen los metalochaperones Atox y CCS (Mejía, 2006).

2.4 Excreción de cobre.

La bilis tiene la más alta concentración de cobre en los fluidos corporales. La pérdida mínima de cobre a través de la orina es consistente con la evidencia presentada de que hay poco o nada de cobre libre en el plasma sanguíneo, y sugiere que ningún complejo de cobre de peso molecular bajo que podría ser filtrado por el glomérulo es reabsorbido específicamente (Linder y Hazegh-Azam, 1996).

La mayor parte del cobre en la bilis parece ser no reabsorbible. También, se cree que la bilis y los jugos pancreáticos reducen la captación intestinal de cobre iónico. La ruta de la bilis puede también ser una ruta prominente para la excreción de cobre cuando grandes dosis de cobre ingresan en el cuerpo (Linder y Hazegh-Azam, 1996).

Cantidades más pequeñas se pierden en el excremento como secreciones de las células intestinales y pancreáticas; en el sudor se pierden cantidades insignificantes (Church *et al.*, 2007).

2.5 El cobre y su rol en la inmunidad

Existen evidencias de que el cobre es esencial en el funcionamiento normal del sistema inmune de los animales. En animales de laboratorio pequeños, la deficiencia de cobre puede afectar el número de células que intervienen en la inmunidad, aumentando los mastocitos en el músculo y disminuyendo algunas subpoblaciones de células T. No obstante el mecanismo directo de acción del cobre sobre la inmunidad es poco conocido (Bala y Failla, 1992; Percival, 1998; Underwood y Suttle, 2003). El sistema inmune está convencionalmente dividido en 2 sistemas, el innato y el adquirido.

El sistema innato es el brazo funcional del sistema inmune que es considerado como la rama no específica. La piel, junto con la capa mucosa en los pasajes nasales y el intestino que

sirven como barrera a los microorganismos, son considerados parte de este sistema (Percival, 1998). Otro componente del sistema innato es una vasta colección de proteínas de suero conocidas como sistema de complemento. Hay más de 20 proteínas que son convertidas y activadas para causar la lisis celular microbiana, algunas de las cuales son anticuerpo dependiente (Percival, 1998; Tizard, 1998).

Las células fagocitarias también son componentes del sistema innato. Los fagocitos incluyen neutrófilos, monocitos, eosinófilos y basófilos. Los neutrófilos circulan en la sangre, mientras que los monocitos, viajan dentro de los tejidos, donde ellos posteriormente se diferencian en macrófagos (Percival, 1998).

Es conocido que la deficiencia de cobre tiene un profundo efecto sobre los neutrófilos y macrófagos. La neutropenia es un signo clínico de deficiencia de cobre en humanos. Un aspirado de médula ósea de humanos deficientes en cobre mostró un incrementado número de promielocitos y un disminuido número de metamielocitos y células de banda. Esto es interpretado como una detención en la maduración de los granulocitos debido a una deficiencia de cobre (Percival, 1998).

Además del reducido número de neutrófilos circulantes, en la deficiencia de cobre, la función de estos mismos resulta dañada (Percival, 1998). La producción reducida de anión superóxido sin alteraciones en la fagocitosis, han sido relacionadas con la deficiencia de cobre (Arthur y Boyne, 1981; Babu y Failla, 1990).

El sistema inmune adquirido específico es la porción del sistema inmune que entra en acción cuando una invasión externa ocurre, de allí el nombre adquirido. El hospedero debe concebir acciones específicas de respuesta a los organismos individuales. Los linfocitos son componentes de la respuesta adquirida que incluyen a las células T y B. Estos dos tipos de células son responsables de la síntesis y secreción de anticuerpos, proveen memoria, activan la cascada clásica de complemento y matan microorganismos invasores (Percival, 1998; Tizard, 1998).

La activación de los linfocitos se produce cuando el antígeno o mitógeno procesado es presentado por los macrófagos al receptor de célula T apropiado, induciendo la síntesis de

citocinas y receptores de superficie (Bala y Failla, 1992). Las citoquinas son los componentes del sistema inmune responsables de la comunicación entre diferentes células de inmunidad.

En condiciones en las cuales existe deficiencia de cobre se daña la respuesta blastogénica de los linfocitos T. Esto se debe a una disminución en los niveles de interleucina 2, una citoquina importante, que actúa como comunicador en la síntesis mitogénica de ADN en los linfocitos (Bala y Failla, 1992, Percival 1998). Esto se demostró cuando Bala y Falla (1992) encontraron que la capacidad proliferativa de las células T del bazo en ratas deficientes en cobre fue significativamente menor que en ratas con niveles de cobre normal en la dieta y a que la adición de interleucina 2 a los cultivos de animales deficientes llevó la respuesta disminuida a niveles normales. La razón por la cual las concentraciones de interleucina 2 están reducidas en animales deficientes en cobre es desconocida.

La deficiencia de cobre, en general, reduce la efectividad de la respuesta adquirida. Estudios de deficiencia de cobre, en los cuales la ceruloplasmina, fue casi indetectable, determinaron que los animales deficientes en cobre eran anémicos, el peso de su timo era significativamente más bajo, y el peso de su bazo era significativamente más alto que el de los animales controles. La producción de anticuerpos por las células del bazo esta significativamente reducida en animales con deficiencia de cobre (Percival, 1998).

La ingesta de altas cantidades de cobre a largo plazo, así como en el caso de la deficiencia, también influye sobre el sistema inmunológico. Esto fue demostrado en un estudio en humanos saludables de 38 años en promedio por Turnlund *et al.*, (2004), quienes encontraron resultados similares a los de la ingesta reducida de cobre como son porcentaje de neutrófilos y de interleucina 2 disminuidos y el número de linfocitos incrementado.

Por otra parte, cambios significativos en la absorción, transporte y metabolismo o excreción del cobre ocurren en inflamación y cáncer. Bajo condiciones de inflamación la concentración de plasma del cobre y de ceruloplasmina se eleva y la tasa de síntesis y secreción de ceruloplasmina por el hígado aumenta. Esto ocurre a través de la transcripción incrementada de ceruloplasmina mRNA en los hepatocitos (Linder y Hazegh-Azam, 1996). La concentración incrementada de esta proteína en la circulación muy probablemente provea protección adicional extracelular contra radicales oxígeno a las membranas celulares

(incluyendo a aquellas de los eritrocitos) durante la activación de leucocitos, macrófagos, y otras células inmunes que se liberan (Linder y Hazegh-Azam, 1996). Esto es confirmado por Song *et al.*, (2009) quienes observan que la suplementación con 50 mg/kg de cobre a pollos desafiados a corto plazo con lipopolisacáridos provenientes de *Salmonella typhimurium* mejora el estrés inmunológico de las aves a través del incremento de los niveles de ceruloplasmina. En un experimento similar, Koh *et al.*, (1996) evaluaron el metabolismo del cobre en pollos durante un estrés inmunológico, inducido mediante lipopolisacáridos, encontrando que la suplementación de cobre en forma de CuSO₄ o CuO a niveles de 10 a 15 mg/kg de cobre adicional mejoran las tasas de ganancia de peso y elevan los niveles de ceruloplasmina del suero. Koh *et al.*, (1996) concluyen que los requerimientos de cobre son más altos para pollos que experimentan una respuesta de fase aguda que para pollos saludables.

2.6 Intestino delgado.

2.6.1 Estructura del intestino delgado.

El intestino delgado es la porción del tubo digestivo donde ocurren los procesos finales de la digestión de los alimentos y de la absorción de los productos de la digestión. Es un órgano bastante largo, lo que permite una acción más prolongada de las enzimas digestivas. Presenta 3 porciones: duodeno, yeyuno e íleon (Junqueira y Carneiro, 1987).

Las cuatro capas que conforman la pared del tubo digestivo son la mucosa, submucosa, la muscular y la serosa. La mucosa a su vez comprende tres capas: una membrana epitelial, una capa subyacente llamada lámina propia, y por último una capa denominada muscularis mucosae (Cormack, 1986).

Cuando se observa a simple vista el revestimiento interno del intestino delgado, se observa una serie de pliegues (*plicae circularis*) de forma semilunar, circular o espiral que son dobleces de las mucosas y submucosas. Con el auxilio de una lente parecen con claridad las vellosidades intestinales. Estas estructuras son evaginaciones de la lámina de la mucosa (epitelio y lámina propia) que se proyectan a la luz del intestino delgado. Son de forma

foliácea en el duodeno, y en el íleon, presentan un aspecto digitiforme. Entre los puntos de inserción de las vellosidades en la mucosa, se observan orificios donde desembocan glándulas tubulares simples: las glándulas intestinales o de Lieberkühn, en donde se produce la renovación del epitelio intestinal en virtud de la intensa actividad mitótica de las células de la porción basal de estas glándulas (Junqueira y Carneiro, 1987).

En el caso específico de las aves, Banks (1986) menciona que el intestino delgado no se divide histológicamente en distintas regiones. Más aun menciona que este se parece al de los mamíferos excepto porque la lámina propia y la submucosa tienen grandes cantidades de tejido linfático ganglionar y difuso, que pueden formar agregados en porción caudal de manera semejante al de las placas de Peyer.

Existen diferencias de las especializaciones de la superficie de la mucosa entre las secciones del intestino delgado; así tenemos que en duodeno, la mucosa está muy plegada con vellosidades y pliegues circulares. Las vellosidades tienden a ser regulares, anchas y obtusas. En el yeyuno, las vellosidades son más angostas y pequeñas, y están en menor cantidad que en la porción craneal del intestino delgado. En el íleon, las vellosidades tienen forma de palo de golf (Cormack, 1986).

2.7 Efecto del cobre sobre la fisiología intestinal.

El medioambiente intestinal es un sistema especializado que es altamente regulado, permitiendo la absorción de nutrientes y la proliferación de microorganismos comensales y también manteniendo las defensas contra bacterias patógenas y otros antígenos (Arias y Koutsos, 2006).

La barrera de la mucosa, como parte de defensa del sistema innato no específico antes mencionado, provee protección a través de la producción de mucus, peristalsis y secreción de lisosimas. Por otro lado, el sistema inmune innato, usa patrones de reconocimiento por receptores para reconocer bacterias patógenas y comensales. Las células del sistema inmune innato y adquirido, tales como las células T y B, macrófagos, mastocitos y otras células, están localizadas a lo largo de la lámina propia, área intraepitelial y tejido linfoide, manteniendo un

medioambiente regulado que desarrolla tolerancia o induce una respuesta inmune cuando se necesita (Shao *et al.*, 2001). La microflora intestinal puede influenciar el sistema inmune de la mucosa, así como también el desarrollo de los sistemas inmunes sistémicos; así por ejemplo, sucede que animales libres de gérmenes tienen reducida la quimiotaxis de los macrófagos y la actividad fagocitaria (Coates *et al.*, 1963). Por ello, algunas poblaciones de la microflora, son críticas para el desarrollo del sistema inmune sistémico, pero niveles excesivos de bacterias patógenas pueden reducir el performance e incrementar el riesgo de enfermedades.

Es mediante la regulación de la microflora intestinal y la reducción de incidencias de translocación bacteriana, que el número de linfocitos se encuentra disminuido, mejorando la absorción de nutrientes. Al respecto se tienen observaciones que revelan que los niveles de sulfato de cobre incorporados en la dieta del broiler modifican el performance y la fisiología intestinal, así como también el medioambiente microbiano (Arias y Koutsos, 2006; European Commission, 2003). Arias y Koutsos (2006) señalan que en medioambientes de alta carga bacteriana existen menos linfocitos en el tracto digestivo de pollos suplementados con 188 mg/kg de cobre (proveniente de sulfato de cobre o de cobre clorado tribásico) o antibiótico que con pollos alimentados sin cobre o sin antibiótico. La menor cantidad de linfocitos provoca una mejor absorción de nutrientes. En ambientes con baja carga bacteriana, interesantemente, los animales con mayor ganancia son solo los alimentados con cobre clorado tribásico o los que no reciben antibiótico. Al parecer, en este caso, los antibióticos pueden afectar negativamente a las bacterias comensales necesarias para la digestión (Forbes y Park, 1959).

Entre las poblaciones bacterianas que se modifican se encuentran algunas gram positivas como el *Streptococcus spp*, la cual es susceptible al cobre en condiciones anaeróbicas, mientras que la mayoría de los lactobacilos y *E. coli* son insensibles (Dunning y Marquis, 1998). No obstante, esta baja sensibilidad del cobre para *E. coli*, hallada por Dunning y Marquis (1998) *in vivo*, no se repite en condiciones de cultivo *in vitro*. Así se tiene, que Pang *et al.*, (2009) hallaron que el cobre influye sobre el crecimiento de lactobacilos y *Escherichia coli*, en medios inoculados con contenido ileal, encontrando incrementos cuadráticos en lactobacilos para concentraciones graduadas de Cu, proveniente del sulfato de cobre pentahidratado, arriba de los 125 mg/kg de Cu y disminuciones cuadráticas en *E. coli* por encima de los 250 mg/kg de Cu, luego de 24 horas de inoculación a 37 grados centígrados.

Con relación a estudios sobre morfometría intestinal, Chiou *et al.*, (1999) encontraron que el promedio normal de longitud de las vellosidades y la longitud de cripta en pollos broilers de 6 semanas de edad es de 1109 y 99 μm , 895 y 94 μm y 698 y 84 μm en el duodeno, yeyuno e íleon, respectivamente. Al suplementarlos con cobre a razón de 250 mg/kg, los mismos autores observaron que la longitud del duodeno disminuyó a 989.4 μm . Otro efecto encontrado fue el engrosamiento de la capa muscular en el duodeno. La suma de estos dos hallazgos; corta longitud de vellosidades y engrosamiento de la capa muscular pueden provocar un aumento en el movimiento peristáltico del intestino. Dado que el ciclo normal de vida de las células del enterocito es de aproximadamente 48 a 96 horas para broilers, un incremento en la tasa de recambio celular en las vellosidades, como lo ocurrido en este experimento debido a que el cobre estimula las células de las vellosidades, contribuiría a reducir en este caso, las vellosidades y disminuir el área de absorción, reduciendo finalmente la tasa de absorción.

Xia *et al.*, (2004) encontraron incrementos en la altura de vellosidad y la relación altura:profundidad en la mucosa del intestino delgado de pollos de 49 días de edad suplementados con montmorillonite de cobre portante (Cu-MMT). La altura de las vellosidades fue significativamente mayor y diferente en el duodeno (839.02 μm), yeyuno (1020.16 μm) e íleon (738 μm) con respecto al grupo control (748 μm , 895 μm y 647 μm , respectivamente). Un incremento similar en altura de las vellosidades y en la tasa altura:profundidad de cripta fue encontrado por Gunal *et al.*, (2006) cuando utilizó probióticos como promotores de crecimiento en la alimentación de pollos de 42 días. Este efecto sobre la morfometría intestinal, no fue corroborado para el antibiótico (flavomycin) o el ácido orgánico usado para efecto de comparación en este experimento.

En el experimento de Arias y Koutsos (1996) la fuente de cobre influyó en diferentes áreas del intestino delgado de diferente manera. La profundidad de la cripta fue mayor en el duodeno cuando se usó sulfato de cobre, mientras que un efecto similar lo obtuvo el CCTB para el yeyuno y el íleon.

2.8 Requerimiento nutritivo del cobre para la ganancia de peso.

El enfoque seguido para establecer las necesidades en minerales es igual al empleado para determinar las necesidades en energía y proteína. La estimación teórica se realiza mediante el método factorial, en tanto que la estimación de necesidades prácticas se lleva a cabo mediante experimentos de balance y de crecimiento. Las necesidades deben tener en cuenta las diferencias en la utilización de los minerales que existen entre las distintas especies y edades de los animales (Mc Donald *et al.*, 2006).

En el método factorial, las necesidades netas en los elementos minerales para el mantenimiento y el crecimiento, conjuntamente, son la suma de las pérdidas endógenas y la cantidad retenida. Para determinar las necesidades en la ración, las necesidades netas se dividen por una cifra media de utilización (expresada en porcentaje) (Mc Donald *et al.*, 2006).

En los experimentos de balance y de crecimiento, los incrementos del nutriente en estudio se agregan a la dieta básica, y se registran las ganancias de peso corporal y el consumo de alimento, siendo importantes las condiciones ambientales estandarizadas. Debe hacerse hincapié en que el requerimiento dietético que resulta suficiente para evitar la aparición de síntomas clínicos de deficiencia, puede ser insuficiente para permitir el máximo crecimiento (Mc Donald *et al.*, 2006; Church *et al.*, 2007).

Para evaluar el estatus de cobre, la medición de la concentración de cobre en el plasma puede ser útil en casos de sospecha de deficiencia. De igual forma ocurre con la ceruloplasmina, sin embargo debe ser notado que desde que la síntesis de ceruloplasmina (una proteína de fase aguda) puede incrementarse en infecciones agudas o crónicas, un nivel normal o elevado en el plasma de ceruloplasmina no se relaciona a deficiencia (Clegg *et al.*, 1987).

En aves, el requerimiento estándar de cobre propuesto por el NRC (1994) es de 8 mg/kg y fue determinado por el experimento realizado por McNaughton y Day (1979). Para la obtención de este requerimiento se tomó en cuenta la interacción entre el cobre y el hierro, mediante la determinación del efecto de la tasa Fe:Cu para maximizar el nivel de hemoglobina, el volumen celular y el peso corporal en pollos hasta los 21 días de edad.

2.8.1 Deficiencia de cobre.

La susceptibilidad relativa de los diferentes procesos dependientes de cobre, y por lo tanto de sus manifestaciones de deficiencia varían con la especie animal y el grado de desarrollo de estas disfunciones (Underwood y Suttle, 2003). La deficiencia de Cu dietético está relacionada con una disminución gradual de las concentraciones tisular y sanguínea de Cu. Los niveles de Cu sanguíneo inferiores en humanos a 0.2 mcg/ml resultan en obstrucción de la hematopoyesis normal y anemia.

Las principales manifestaciones clínicas observadas en animales son la anemia, alteraciones vasculares y la susceptibilidad a infecciones.

a) Anemia

La anemia es probablemente la lesión más frecuente asociada con la deficiencia crónica de cobre (Linder y Hazegh-Azam, 1996). La anemia es de tipo microcítica hipocrómica en algunas especies (ratas, conejos, corderos y cerdos), no diferenciable de la provocada por deficiencia de hierro, en otras es macrocítica hipocrómica (bovinos, ovejas), normocítica y monocromática (polluelos, perros) (Underwood y Suttle, 2003; Church *et al.*, 2007) y microcítica e hipocrómica en aves (NRC, 1994).

La deficiencia de cobre acorta el tiempo de vida de los eritrocitos y reduce la absorción y la utilización de Fe. Así, la anemia está relacionada en parte con un efecto directo en la formación de eritrocitos, resultando de la necesidad de Cu como componente de los glóbulos rojos y en parte con un efecto indirecto relacionado con la concentración de ceruloplasmina del plasma que de esta manera reduce la absorción y la utilización de Fe (Church *et al.*, 2007).

Se puede observar una acumulación de hierro específico en el hígado, junto con incrementos en oxigenasas hemo, debido a la disminución de la ceruloplasmina. La administración intravenosa de esta enzima estimula inmediatamente el flujo de hierro desde el hígado a la sangre, implicando cobre (y al parecer ceruloplasmina) en este proceso (Koh *et al.*, 1996; Linder y Hazegh-Azam, 1996).

Probablemente una reducción en el flujo de hierro no sea el único defecto o incluso el principal en la deficiencia de cobre responsable de la anemia, porque no todos los animales desarrollan anemia en respuesta a la privación de cobre, razón por la cual se postula que la producción del grupo heme parece estar dañada. El paso exacto involucrado no ha sido identificado, pero podría involucrar el hacer al Fe^{2+} disponible en la mitocondria. Además, una reducida actividad de la citocromo *c* oxidasa que conduce a una más baja tasa de flujo de electrones, y quizás a una menor producción de ATP, para la síntesis de hemoglobina por los eritrocitos, podrían ser otro factor. Una última posibilidad es que la vida media de los eritrocitos este reducida, debido a que no están tan protegidos contra el daño oxidativo en deficiencia de cobre cuando las concentraciones de ceruloplasmina son bajas (Linder y Hazegh-Azam, 1996).

b) Alteraciones cardiovasculares

La elastina de animales deficientes en cobre tiende a tener un elevado contenido de lisina y un bajo contenido de desmosina e isodesmosina. La lesión bioquímica propuesta es en parte una reducción en la actividad de la enzima lisil oxidasa, la cual remueve el grupo ϵ -amino de la lisina y está involucrada en la oxidación del carbono a un aldehído para conexión cruzada espontánea de la tropoelastina y el tropocolágeno (Klevay, 2000; Underwood y Suttle, 2003).

c) Susceptibilidad a infecciones

La deficiencia de cobre, particularmente durante el desarrollo temprano, ha mostrado tener un efecto negativo sobre el sistema inmune de ovejas, ganado, ratones y humanos. Los efectos de la deficiencia de cobre incluyen función neutrofílica dañada, susceptibilidad incrementada para infecciones bacterianas, resistencia disminuida para resistencia a tumor, reducidas células inmunomediadas y de inmunidad humoral y alteraciones en la subpoblación de linfocitos (Underwood y Suttle, 2003).

En inmunología, la deficiencia de cobre puede reducir la cantidad y función de los neutrófilos, disminuir la capacidad de respuesta a los mitógenos, reducir las cifras de células T y NK, y favorecer la liberación de histamina por las células cebadas (Tizard 1998).

Arthur y Boyne (1985) reportaron que la pérdida de la actividad microbicida neutrofílica asociada con la deficiencia de cobre en el ganado es secundaria a las fallas para producir superóxido dentro del fagosoma del neutrófilo.

2.8.2 Exceso de cobre.

La base de la toxicidad del cobre, como en el caso del hierro, puede ser adscrita a su propensión por catalizar la producción de radicales de oxígeno, los cuales, cuando se unen a agentes quelantes como el ascorbato causan reducción del Cu^{2+} (Linder y Hazegh-Azam, 1996).

La sensibilidad de las especies al cobre varía. En particular, niveles tóxicos pueden ser alcanzados rápidamente en ovejas, los cuales son los animales más sensibles seguidos de los terneros que no rumian. Los cerdos y las aves son animales más tolerantes. El exceso de cobre conduce a una reducción en el número de eritrocitos y consecuentemente a una anemia macrocítica, en especial en jóvenes animales naturalmente privados de hierro. Excesos de cobre en la dieta incrementan el cobre intracelular, conducen a una lisis hepática y a la liberación de contenido celular en el hígado, causando ictericia y ascitis (European Commission, 2003).

En aves se ha señalado que niveles superiores a 250 mg/kg podrían ocasionar erosión en la molleja (Chiou *et al.*, 1999; Fisher *et al.*, 1973) o afectar negativamente los parámetros productivos. Miles *et al.*, (1998) encontraron que pollos alimentados con 450 ppm de cobre proveniente de sulfato de cobre tuvieron menor ingesta de alimento que aquellos que consumieron otras dietas. Zia-Ur-Rahman *et al.*, (2001) encontraron que la suplementación de cobre a 350 mg/kg de sulfato de cobre incrementa los niveles de las enzimas aspartato aminotransferasa (AAT) y alanina aminotransferasa (AST), enzimas que son indicadoras de daño hepático.

Finalmente, un exceso de cobre a largo plazo generalmente produce una disminución en el crecimiento y un incremento en la mortalidad (European Commission, 2003), desarrollo de cirrosis hepática, junto con episodios de hemólisis y daño en los túbulos renales, cerebro y otros órganos (Linder y Hazegh-Azam, 1996).

2.9 Modo de acción del cobre como promotor de crecimiento.

Zhou *et al.*, (1994a) han puesto en evidencia la contribución importante de la estimulación del apetito como el efecto del factor de crecimiento del cobre. Según estos autores el cobre favorece la secreción de neuropéptidos Y, estimulantes del apetito. No obstante, este mecanismo no constituye la única componente del efecto factor de crecimiento del cobre.

Las propiedades fungicidas y bactericidas del cobre son frecuentemente citadas como ser el origen de su efecto como factor de crecimiento en el cerdo (Poulsen, 1998). La adición de cobre en cultivos celulares de bacterias responsables de la disentería en el cerdo inhibe su actividad hematológica (Dupont *et al.*, 1994), la introducción del cobre en la ración de los porcinos destetados modifica el perfil de la flora fecal (Bunch *et al.*, 1961), finalmente, el efecto de cobre como factor de crecimiento es más pronunciado en los lechones convencionales que en los lechones libres de patógenos (Shurson *et al.*, 1990).

Se ha mostrado el efecto estimulante del cobre sobre el crecimiento del porcino destetado por la inyección intravenosa de histidinato de cobre, sugiriendo un modo de acción sistémico, diferente al efecto de los antibióticos en el tubo digestivo Zhou *et al.*, (1994b). Según estos autores, el cobre actuaría directamente sobre el sistema de regulación del crecimiento. Esta hipótesis es corroborada por el aumento del coeficiente de retención del nitrógeno, sin modificación de su coeficiente de digestibilidad observado por Luo y Dove (1996).

Al usar al cobre con otros promotores de crecimiento, como antibióticos y prebióticos, Waldroup *et al.*, (2003) encontraron que se puede producir interferencia con el accionar de los mismos. Utilizando un manano oligosacárido como prebiótico además de bacitracina

(55mg/kg) en dietas que contenían 250 ppm de sulfato de cobre encontraron que en ningún caso, ya sea con antibiótico y prebiótico separados o juntos en las dietas, el peso corporal de los pollos mostró diferencia significativa.

En definitiva, el modo de acción de cobre como factor de crecimiento es verdaderamente multifactorial y diferente al de los antibióticos añadidos a dosis subterapéuticas.

2.10 El cobre y el colesterol.

El cobre parece tener un rol importante en el control del colesterol. Es bien conocido que la hipercolesterolemia es un síntoma en la deficiencia dietaria de cobre. En rumiantes, Solaiman *et al.*, (2006) encontraron que la suplementación con cobre a 100 mg/día mejora la eficiencia de conversión, altera el perfil de lípidos del suero reduciendo los NEFA (ácidos grasos no esterificados) y disminuye la profundidad de grasa de la carcasa, en dietas con alto contenido de concentrado, cuando trabajó con cabras de 8 meses de edad.

En pollos niveles elevados de sulfato de cobre, mejoran el metabolismo de la grasa cruda, lo cual se traduce en un bajo peso de grasa abdominal (Paik *et al.*, 1999) y colesterol (Samantha *et al.*, 2011). Bakali *et al.*, (1995) encontraron que el contenido de colesterol en el tejido muscular comestible de pollos alimentados con 250 mg/kg de cobre adicional en la forma de sulfato cúprico pentahidratado fue aproximadamente 25% menos que el de pollos alimentados sin cobre adicional. Un nivel similar de disminución en el colesterol (30%) fue encontrado en el musculo pectoral de los pollos por Skrivan *et al.*, (2002). Estos niveles supranormales de cobre en la dieta no alteraron el crecimiento de los pollos ni incrementaron el contenido de cobre en la carne comestible.

La suplementación con cobre altera el metabolismo de los lípidos y cambia la composición de los ácidos grasos, así por ejemplo en dietas con deficiencia de cobre se sabe que el ácido palmítico se encuentra disminuido. En contraste a este déficit de cobre en la dieta, Skrivan *et al.*, (2002) encontraron que al suplementar con 126 mg/kg de Cu se incrementa la concentración de ácidos docosahexanoico (DHA) y docosapentanoico (DPA). Este efecto del

cobre es por tanto, similar al que presentan los ácidos grasos poliinsaturados (PUFA), provenientes especialmente del aceite o harina de pescado sobre la composición de la carcasa en pollos.

En gallinas, Pesti y Bakalli (1998) encontraron que las concentraciones de colesterol en la yema de huevo de gallinas alimentadas con 125 mg Cu/kg usando sulfato de cobre como fuente, disminuyeron en 11.7 % con respecto al control; similar resultado se obtuvo al agregar 250 ppm, pero esta vez sin diferencia estadística significativa. De igual forma en codornices, Abaza *et al.*, (2009) encontraron una disminución en el contenido de colesterol de los huevos al agregar sulfato de cobre a razón de 100 mg/kg.

El mecanismo por el cual el cobre influye sobre el perfil lipídico se piensa que es debido a que los altos niveles de este mineral incrementan el cobre hepático, el cual regula la biosíntesis de colesterol, mediante la reducción de la concentración de glutatión hepática (GSH), la cual reduce finalmente la actividad de la HMG-CoA reductasa, que es la enzima clave para la biosíntesis de colesterol, disminuyendo por tanto el contenido de colesterol (Mondal *et al.*, 2007; Sangbae *et al.*, 1992, Konjufca *et al.*, 1997). De igual forma, se postula, que la hipercolesterolemia puede estar relacionada con incrementos en la relación entre ácidos grasos saturados y monoinsaturados de la serie C18, debido a una reducción en la actividad de la C₁₈, Δ^9 -desaturasa, una enzima que requiere cobre (Devlin, 2000).

2.11 Biodisponibilidad del cobre.

Biodisponibilidad de un elemento traza se refiere a la proporción de un elemento ingerido que es absorbido, transportado a su sitio de acción y convertido en una forma fisiológica activa (O'Dell, 1983). Varios componentes de la dieta importantes afectan la biodisponibilidad de los elementos traza y su principal efecto es sobre la absorción verdadera del elemento, la cual se define como la proporción de un nutriente en la comida que se mueve del lumen intestinal a través de la mucosa y dentro del cuerpo (O'Dell, 1983).

En el caso del cobre, los intentos para determinar su biodisponibilidad a partir de fuentes inorgánicas usando métodos tradicionales no han logrado el mismo éxito que el de las

fuentes orgánicas. Estos resultados son complicados por las interacciones que el cobre tiene con constituyentes de la dieta (Baker *et al.*, 1991).

Dentro de los elementos minerales de la dieta, algunos elementos ingeridos en sus formas inorgánicas son casi completamente absorbidos (K, Na, Cl, I, F), otros tienen 70-90% de eficiencia de absorción (P, Se, B, As). El Cu, Ca, Mg presentan 30-40%, mientras que ya en menor cantidad se encuentran el Mn y V tienen 5% Mn, V y finalmente el cromo (Cr) con solo 1% (Baker, 2005).

El hígado es el principal órgano en la homeostasis del cobre (Mejía *et al.*, 2006; Roberts y Sarkar, 2008); esto constituye una de las principales razones por las cuales es usado para estimar la biodisponibilidad del cobre, además de estar correlacionado con índices importantes de utilización de cobre tales como la ceruloplasmina y el cobre zinc superóxido dismutasa (Lee *et al.*, 1988; Ledoux *et al.*, 1991). Por tanto, la biodisponibilidad de los diferentes minerales traza mide el almacén hepático obtenido luego de un período de alimentación (European Commission, 2003).

La concentración normal de cobre en el hígado puede variar de 19.4 a 23 mg/kg de materia seca en aves (Ledoux *et al.*, 1991). El contenido en huevo es bajo, siendo su promedio de 0.66 mg/kg para un contenido de materia seca de 25.6% (Kirkpatrick y Coffin, 1975).

Por otro lado, la biodisponibilidad puede ser predicha a través de la solubilidad de las fuentes. Así por ejemplo, Guo *et al.*, (2001) encontraron un coeficiente de correlación alto de la solubilidad en fuentes de cobre orgánicas a pH 2.

2.12 Factores que afectan la biodisponibilidad del cobre.

Entre los principales factores que afectan la biodisponibilidad de cobre se encuentran: las dietas, las proteínas, el fitato y la fibra, el ácido ascórbico y el zinc.

a) Ácido Ascórbico

Es bien conocido que el ácido ascórbico ejerce un efecto negativo sobre la absorción de cobre en animales de laboratorio. Hay considerable evidencia de que este efecto sea alcanzado por la reducción del ion cuproso (Cu^{1+}) a ion cúprico (Cu^{2++}), el cual constituye una forma de menor absorción (Lönnerdal, 1996). Este efecto es ejercido en el estadio absorptivo en el intestino delgado, no obstante, el ácido ascórbico puede también afectar el metabolismo del cobre en un estadio posterior que el de la absorción en el tracto intestinal. Di Silvestro y Harris (1981) señalan que en pollos deficientes en cobre, la provisión de ascorbato ofrecido durante o antes de 75 minutos de la provisión de cobre intraperitoneal, daña significativamente la utilización de este mineral; en contraste, cuando el ascorbato es suministrado después de 75 minutos de la provisión de cobre intraperitoneal en la forma de CuSO_4 , la actividad de las enzimas dependientes de cobre se incrementa. Este efecto parece ser específico de la forma L-ascorbato debido a que puede ser uno de los agentes reductores necesarios para la reducción de ceruloplasmina unida a cobre con la finalidad de hacerlo disponible intracelularmente. Este caso no se da con el ácido D-ascórbico (Lönnerdal, 1996).

b) Aminoácidos

Se conoce que algunos aminoácidos forman complejos con cationes divalentes como el cobre. La histidina, puede quelar el cobre con una afinidad cercana a tres órdenes de magnitud mayores que para el zinc, es por esto que la formación de un complejo cobre-histidina constituye una forma efectiva de proveer cobre disponible cuando se necesite. En el duodeno y yeyuno, en estudios de paso simple por perfusión, se encontró que la acumulación de cobre en el tejido de la mucosa fue más grande cuando se uso un exceso de histidina para cobre y zinc (Lönnerdal, 1996).

En contraste, altas concentraciones de cisteína, tienen un efecto inhibitorio sobre la utilización de cobre en pollos. Este efecto sobre la absorción de cobre es evidente para concentraciones deficientes en cobre o en exceso (Lönnerdal, 1996; Robbins y Baker, 1980). La cisteína es capaz de unirse al cobre y por tanto reducir su absorción por el intestino. Los componentes que contienen cisteína son más efectivos incluso que el ácido ascórbico o el zinc en incrementar la depresión de crecimiento inducida por cobre. En el caso del cerdo, por ejemplo, el alto contenido de cisteína parece ser la causa del porque la biodisponibilidad del cobre en el hígado de cerdo (usado frecuentemente en alimento de perros) es cercana a cero. Asimismo, el cobre en carne de vacuno e hígado de pollo por otro lado, es tan biodisponible como el $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, debido de forma análoga al caso del cerdo, a un menor contenido de cisteína (Baker, 2005).

Altos niveles de cobre, pueden afectar los requerimientos de aminoácidos azufrados en pollos provocándose una reducción en el crecimiento (Robbins y Baker, 1980; Kassin y Suwanpradit, 1996). Esto parece deberse a que los componentes con grupos SH libres como la cisteína y el glutatión, quelan rápidamente el cobre, para formar cobre-SH unido el cual no puede ser fácilmente dissociado. La formación del quelado cobre-cisteína tiene también el efecto de disminuir la disponibilidad de los aminoácidos azufrados y bajar la toxicidad del cobre. En pavos, Kashani *et al.*, (1986) encontraron que agregar cobre hasta 250 ppm no tuvo influencia sobre los requerimientos de metionina. Al parecer el uso de suplementación de metionina con cobre, se justifica en el hecho de que la metionina contrarresta la depresión en el crecimiento ocasionada por exceso de cobre (Robbins y Baker, 1980).

c) Interacciones con cobre

El cobre y el zinc tienen la misma configuración electrónica y una similar forma de coordinación de complejos en el agua (Lönnerdal, 1996). Hill y Matrone (1970) hipotetizaron que los elementos que comparten estas propiedades interactúan a nivel de absorción.

Cuando el zinc y el cobre varían dentro de un rango relativamente normal, no existe efecto inhibitorio sobre la absorción de cobre. La interacción cobre zinc es expresada mas dramáticamente cuando el cobre de la dieta es limitante y el zinc esta en exceso. De hecho, es

una de las mejores interacciones definidas la cual resulta en una disminución de la biodisponibilidad (Lönnerdal, 1996).

No solo el zinc interfiere con la absorción del cobre de los segmentos intestinales, sino que también induce signos de deficiencia de cobre (O'Dell, 1983). Ao *et al.*, (2009) encontraron que el antagonismo entre zinc y cobre ocurre cuando las formas inorgánicas, pero no las formas orgánicas de estos 2 minerales son incluidas en la dieta.

El cadmio daña la absorción de cobre y su utilización como se demostró en pollos en crecimiento y en la absorción de cobre del intestino de las ratas. El cadmio de la dieta incrementa la proporción de cobre secuestrado en la mucosa del intestino donde es asociado con metalotioneína (O'Dell, 1983).

La plata acentúa los signos de deficiencia de cobre como se indicó por el reducido crecimiento, la mortalidad incrementada, la anemia y la falla de elastina de la aorta para formar uniones cruzadas. Todos estos signos son eliminados mediante una adecuada suplementación de cobre. Por esto, la dieta de plata de 100 a 200 ppm disminuye la disponibilidad de cobre (O'Dell, 1983).

d) Fitato y Fibra Cruda

El ácido fítico (mioinositol 1,2,3,4,5,6-hexafosfato) representa la principal forma de almacén de fósforo en los cereales, legumbres y oleaginosas. Su efecto antinutricional se debe a 6 grupos fosfatos capaces de unirse con cationes di y tetravalentes, como los del calcio, cobre, zinc y manganeso, para formar complejos estables, llamados fitatos (Davies y Nightingale, 1975; Jondreville *et al.*, 2002) que no pueden ser absorbidos en el tracto intestinal; reduciéndose de esta forma la absorción y biodisponibilidad de estos minerales traza.

En los alimentos se sabe que el cobre presente se encuentra naturalmente unido de forma covalente al ácido fítico (European Commission, 2003). Por esta razón, generalmente se asume que el cobre de las plantas es menos absorbible para el animal que aquel en suplementos inorgánicos (Aoyagi *et al.*, 1993).

En animales de laboratorio el fitato reduce la retención del cobre cuando su concentración en las dietas, a 25 mg/kg, es 4 a 5 veces mayor al recomendado por los niveles mínimos dietarios (Davies y Nightingale, 1975).

Las sales de Ca reducen la absorción de Cu al aumentar el pH, sin embargo el cobre es menos sensible a la presencia de fitatos de calcio que otros minerales traza como el zinc (Church *et al.*, 2007).

La adición de fitasas, enzimas que destruyen el ácido fítico, a la dieta puede mejorar la absorción de cobre. Así, por ejemplo, en cerdos, en caso de aportes superiores de cobre, del orden de 120 a 150 ppm, una mejora significativa se observó en la digestibilidad fecal aparente de cobre por la adición de 500 a 1500 unidades de fitasa microbiana (Kirchgessner *et al.*, 1994; Jondreiville *et al.*, 2002).

Por otro lado, se sabe que cuando el cobre se une al fitato, se puede formar un quelado, el cual constituye un complejo insoluble en el pH intestinal (6.0), que evita la absorción de sus componentes. Una consecuencia de esto, es que también el fósforo puede resultar indisponible. Banks *et al.*, (2004b) sostienen que con la suplementación de cobre en 250 ppm proveniente de citrato de cobre y sulfato de cobre, disminuye la retención aparente de fósforo. No obstante usando cobre clorado o cobre-lisina a 250 ppm la retención de fósforo no se reduce.

2.13 Fuentes de cobre sobre la alimentación de aves.

El tenor de cobre en los cereales, sus productos secundarios y los granos de oleaginosas se sitúan en promedio entre 5 a 15 ppm. Las tortas de oleaginosas son ligeramente más ricas, con tenores entre 20 ppm para la torta de soya. Por otro lado la leche y productos lácteos tiene escaso contenido de cobre (Lönnerdal, 1996).

Las fuentes de cobre pueden ser orgánicas o inorgánicas (Jondreiville *et al.*, 2002). Entre las fuentes de cobre dominantes 25 años atrás, usadas en mezclas minerales, el óxido cúprico (CuO) fue la más usada tanto para animales como para humanos.

Las fuentes orgánicas de cobre, llamadas protegidas, resultan de la unión de un metal con una molécula orgánica. La molécula puede ser una proteína parcialmente hidrolizada (proteinato de metal), un aminoácido (complejo aminoácido metal) o incluso un polisacárido (complejo metal polisacárido) (Jondreville *et al.*, 2002). La absorción facilitada del cobre en las fuentes orgánicas se explica en el hecho de que estos complejos de cobre mantienen su integridad estructural en el tracto digestivo evitando la formación de complejos insolubles, para llegar a los sitios de absorción en el intestino delgado como una molécula original intacta, la cual puede ser absorbida y metabolizada como tal. Entre los productos de origen orgánico más utilizados como fuentes adicionales de cobre se encuentran el cobre-lisina, cobre-metionina y los quelados de cobre aminoácidos (Aoyagi y Baker, 1993a; Guo *et al.*, 2001).

La biodisponibilidad estimada para fuentes orgánicas de cobre fluctúa entre 88 a 147% de la respuesta del sulfato cúprico en aves, cerdos, ovejas y ganado (Apgar *et al.*; 1995; Guo *et al.*, 2001). El complejo cobre-lisina presenta, según Guo *et al.*, (1991), una disponibilidad alta de 124% con respecto al sulfato de cobre como control con 100%, siendo más elevada que la de otras fuentes orgánicas comúnmente usadas como cobre-metionina, cuya biodisponibilidad con respecto al sulfato de cobre es de 96% (Aoyagi y Baker, 1993b).

No obstante los beneficios de utilizar cobre en forma orgánica, no existe un consenso sobre un beneficio real a su uso al compararlo con fuentes inorgánicas. Guo *et al.*, (2001) no encontraron diferencia estadística en los parámetros productivos de pollos al comparar estas fuentes orgánicas con el sulfato de cobre. Asimismo, Aoyagi y Baker (1993a) señalan que pese a que existe una biodisponibilidad mayor en cobre lisina, ésta, no es diferente estadísticamente al sulfato de cobre. Una forma de aprovechar las características de las fuentes orgánicas de cobre, es mediante su inclusión en la dieta cuando existe una presencia alta de inhibidores de cobre tales como la cisteína o el ascorbato (Lønnerdal, 1996). En aves niveles superiores 300 mg/kg del complejo cobre metionina pueden protegerlas del antagonismo de L-cisteína (Aoyagi y Baker, 1993b).

Las fuentes inorgánicas de cobre, a diferencia de las orgánicas cuya absorción es facilitada gracias a estar unida a un aminoácido, lo que les permiten ser absorbidas mediante una vía de transporte de aminoácidos diferente al tradicional mecanismo de transporte convencional de cobre-zinc (Lønnerdal, 1996) tienen entre sus características, las de tener que

presentar al cobre en forma reducida. Debido a este requisito, investigaciones en cerdos y pollos han mostrado claramente que el cobre en forma de CuO no suministra ninguna cantidad de cobre biodisponible para el animal (Aoyagi *et al.*, 1993; Jondreville *et al.*, 2002) a diferencia de lo que si ocurre con el óxido de cobre en su estado +1 (i.e., Cu₂O, óxido cuproso), el sulfato y las sales cloradas de cobre, las cuales presentan una buena biodisponibilidad (Baker, 2005; Jondreville *et al.*, 2002). Es necesario conocer también que las diferencias en los atributos de las fuentes inorgánicas de cobre, como el óxido de cobre o el sulfato de cobre, dependen además del modo de obtención de los óxidos y de su solubilidad.

El sulfato de cobre pentahidratado (CuSO₄.5H₂O) es un compuesto soluble en agua con 25.4% de cobre (Miles *et al.*, 1998) cuyo uso en aves es ampliamente difundido (Skrivan *et al.*, 2002; Abaza, *et al.*, 2009). Así por ejemplo, su uso en codornices de postura, a razón de 100 mg/kg, con 20% de proteína en la dieta, mejora la masa del huevo y el peso corporal de las aves. Al parecer el uso del sulfato de cobre no influye sobre el crecimiento en los pavos (Kashani *et al.*, 1986).

El sulfato de cobre, debido a su elevado almacenamiento hepático, es utilizado como modelo para determinar la biodisponibilidad de cobre de las fuentes orgánicas, considerándole por tanto como 100% (Ledoux *et al.*, 1991).

El cobre en estado iónico, favorece la inducción y propagación de la peroxidación de los lípidos. Como consecuencia, la introducción de dosis elevadas de cobre en la forma de sulfato en el alimento requiere de algunas precauciones en cuanto al aporte de la vitamina E, agente radical extremadamente sensible a la oxidación. Al respecto, Dove y Ewan (1990) encontraron que la adición de 250 ppm de cobre bajo la forma de sulfato en el alimento conduce a una aceleración en la destrucción de los tocoferoles naturalmente presentes en el alimento.

El cobre clorado tribásico (Cu₂(OH)₃Cl) cuyas siglas son CCTB, es un compuesto insoluble en agua pero soluble en 0.4% de HCl y citrato neutro de amonio, con aproximadamente 55.6% de cobre. Debido a que menos de un 1% del cobre en el CCTB es soluble en agua y gracias a su baja reactividad química es menos activo que el sulfato de cobre en catalizar la destrucción de ciertas vitaminas y otros componentes orgánicos cuando se

concentra en mezclas básicas o cuando se incluye en suplementos y dietas (Hooge *et al.*, 1998).

Al respecto, Luo *et al.*, (2005) encontraron que el contenido de vitamina E en alimento fortificado con 300 mg/kg de cobre como CCTB es más alto que en aquellos alimentos a los cuales se les añade 300 mg/kg de cobre como sulfato de cobre. Luo *et al.*, (2005) señalan que cuando los alimentos son almacenados a temperatura ambiente por 10 y 21 días, el contenido de vitamina E en el alimento suplementado con sulfato de cobre disminuye 22.6 y 40.2%, respectivamente, mientras que el contenido de vitamina E en el alimento fortificado con CCTB disminuye 13.8 y 18.2%, respectivamente, en comparación con el valor al inicio del experimento; por lo tanto, las pérdidas de porcentaje de contenido de vitamina E en el alimento fortificado con CCTB al día 10 y 21 fueron 8.8 y 22% menos que aquellos en el alimento añadido con CuSO_4 , respectivamente. En concordancia, Miles *et al.*, (1998) señalan que el CCTB a 300 ppm tiene una actividad prooxidante menor que el sulfato de cobre de acuerdo al valor del peróxido y al de la anisidina en las dietas.

En relación a la biodisponibilidad del cobre clorado tribásico (CCTB), se conoce que es consistentemente igual o mejor que el del CuSO_4 (Miles *et al.*, 1998). Además, el cobre clorado tribásico posee varias características químicas que lo hacen deseable como fuente de cobre en producción, tales como pequeño tamaño de partícula, excelente fluidez y baja solubilidad en el agua.

El oxicloruro de cobre ($\text{CuCl}_2 \cdot 3\text{CuO} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) es otra fuente inorgánica de cobre. Ewing *et al.*, (1998) encontraron que alimentando con esta fuente de cobre a razón de 125 mg/kg, la ganancia de peso fue superior al grupo control de forma constante en los días 35 (1.794 kg vs 1.739 kg), 42 (2.551 kg vs. 2.477 kg) y 56 (3.415 kg vs. 3.245 kg) del experimento. En el mismo estudio Ewing *et al.*, (1998) encuentran que el citrato cúprico suplementado a razón de 65 mg/kg en la dieta, mejora los parámetros y conversión alimenticia en los días 42 y 35 con respecto al grupo control, siendo incluso mejor que el oxicloruro de cobre y el sulfato incorporados a 125 mg/kg. No obstante este resultado favorable al citrato cúprico, Brainer *et al.*, (2003) no encontraron diferencia favorable en ningún tratamiento con pollos suplementados con citrato cúprico a razón de 75 mg Cu kg^{-1} , o el sulfato cúprico a 250 ppm, donde el peso logrado a los 42 días fue de 2.44 y 2.42 kg, para el citrato y el sulfato

respectivamente. De igual forma, la eficiencia de conversión fue de 1.853 y 1.849 respectivamente.

De lo expuesto, se deduce que en la literatura no siempre la suplementación con cobre resulta en una mejora evidente del peso corporal con respecto al grupo control (Guo *et al.*, 2001; Skrivan *et al.*, 2002; Brainer *et al.*, 2003). La distinta biodisponibilidad de las fuentes de cobre, así como la cantidad de inclusión de cobre en la dieta serian las causas de esta diferencia. Al respecto, Miñón *et al.*, (2006) señalan que existen diferentes dosis en las cuales se puede agregar el cobre dependiendo si lo que se desea obtener es un máximo crecimiento biológico o económico, encontrando además que el requerimiento para ambos casos no es el mismo. El valor sugerido de sulfato de cobre por Miñón *et al.*, (2006) que maximiza la ganancia de peso es de 122.99 mg/kg; el que minimiza la conversión alimenticia es de 163.36 mg/kg y por último, el que maximiza las utilidades es de 127.17 mg/kg. Por tanto, luego de muchas investigaciones se sugiere que la adición de cobre en niveles de 125 y 250 mg/kg en el alimento es la más efectiva en promover el crecimiento en pollos y no el estándar de 8 mg/kg propuesto por el NRC (1994).

Finalmente, con respecto al período de mejor utilización del cobre, Miñón *et al.*, (2006) consideran que recién entre los 21-42 días de edad el cobre influye sobre el consumo de alimento, la ganancia de peso, la conversión alimenticia y el peso vivo de los pollos; asimismo, el sexo de las aves no influye sobre estos parámetros. No obstante, esto no guarda concordancia con lo hallado por Miles *et al.*, (1998) quienes alimentando pollos con 0, 200, 400 o 600 ppm de Cu proveniente de sulfato de cobre o de CCTB, en un período de 21 a 42 días, no encontraron diferencia significativa en el peso corporal o conversión alimenticia.

III MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Lugar de ejecución.

La fase experimental del presente estudio se realizó en el Laboratorio de Investigación en Nutrición y Alimentación de Aves (LINAA) de la Universidad Nacional Agraria de La Molina (UNALM), durante los meses de Abril a Mayo del 2011.

3.2 Animales experimentales

Se emplearon 200 pollos BB de la Línea Cobb 500, machos de un día de edad. Estos 200 pollos fueron distribuidos al azar en 5 tratamientos de 40 pollos cada uno. Cada tratamiento constó de 4 repeticiones, con 10 pollos por cada repetición. El tiempo de crianza fue de 1 a 10 días para la fase de inicio, de 11 a 22 días para la fase de crecimiento y de 23 a 40 días para la fase de acabado.

3.3 Instalaciones y equipos.

El experimento fue llevado a cabo en 2 jaulas metálicas de malla galvanizada (baterías) de 5 pisos cada una y con dos divisiones por piso. Estuvieron implementadas con comederos y bebederos lineales tipo canaleta en la parte externa.

3.4 Tratamientos.

Los tratamientos a evaluar fueron los siguientes:

Tratamiento 1 (T1): Dieta base con zinc bacitracina

Tratamiento 2 (T2): Dieta basal sin zinc bacitracina y sin fuente de cobre

Tratamiento 3 (T3): Dieta basal sin zinc bacitracina más 250 ppm de Cu en la forma de Sulfato de Cobre Pentahidratado.

Tratamiento 4 (T4): Dieta basal sin zinc bacitracina más 250 ppm de Cu en la forma de Oxidocloruro de Cobre

Tratamiento 5 (T5): Dieta basal sin zinc bacitracina más 250 ppm de Cu en la forma de cobre clorado tribásico (CCTB).

Las dietas experimentales fueron formuladas siguiendo las especificaciones nutricionales de la Línea Cobb 500. La composición y valor nutricional calculado de las dietas usadas en el ensayo se muestran en los Cuadros 2, 3 y 4.

La composición de la premezcla de vitaminas y minerales se muestra en el Cuadro 5. El contenido actual de cobre en el alimento se determinó en el Laboratorio de Certificaciones del Perú S.A (CERPER) para la determinación de cobre por espectrofotometría de absorción atómica. Los valores son presentados en el Cuadro 6.

Cuadro 2: Composición porcentual y valor nutritivo de las dietas experimentales empleadas en la etapa de inicio (0 a 10 días).

	TRATAMIENTOS				
	T1	T2	T3	T4	T5
Maíz	59.40	59.40	59.40	59.40	59.40
Torta de Soya	28.92	28.92	28.92	28.92	28.92
Harina de Pescado	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00
Aceite de Soya	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00
Fosfato dicalcico	1.74	1.74	1.74	1.74	1.74
Subproducto de Trigo	1.23	1.23	1.23	1.23	1.23
Carbonato de calcio	0.70	0.70	0.70	0.70	0.70
Sal Común	0.40	0.40	0.40	0.40	0.40
DL Metionina	0.19	0.19	0.19	0.19	0.19
Premix (Vitaminas y minerales)	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10
Cloruro de Colina	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10
Adsorbente de micotoxinas	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10
Coccidiostato	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05
HCl Lisina	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03
Antioxidante	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02
Antibiótico	0.05	----	----	----	----
Sulfato de Cobre	----	----	0.10	----	----
Oxiclورو de Cobre	----	----	----	0.05	----
CCTB	----	----	----	----	0.05
Valor Nutricional (Calculado)					
Energía Metabolizable, kcal kg ⁻¹	2.988	2.988	2.988	2.988	2.988
Proteína Bruta, %	21.00	21.00	21.00	21.00	21.00
Grasa total, %	6.16	6.16	6.16	6.16	6.16
Fibra Cruda, %	2.81	2.81	2.81	2.81	2.81
Calcio, %	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Fósforo disponible, %	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
Lisina total, %	1.20	1.20	1.20	1.20	1.20
Metionina total, %	0.56	0.56	0.56	0.56	0.56
Met + Cis total, %	0.89	0.89	0.89	0.89	0.89
Treonina total, %	0.81	0.81	0.81	0.81	0.81
Triptófano, %	0.24	0.24	0.24	0.24	0.24
Sodio, %	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20

Cuadro 3: Composición porcentual y valor nutritivo de las dietas experimentales empleadas en la etapa de crecimiento (11 a 22 días).

	TRATAMIENTOS				
	T1	T2	T3	T4	T5
Maíz	62.57	62.57	62.57	62.57	62.57
Torta de Soya	23.52	23.52	23.52	23.52	23.52
Harina de Pescado	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00
Aceite de Soya	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00
Fosfato dicalcico	1.66	1.66	1.66	1.66	1.66
Subproducto de Trigo	2.57	2.57	2.57	2.57	2.57
Carbonato de calcio	0.68	0.68	0.68	0.68	0.68
Sal Común	0.32	0.32	0.32	0.32	0.32
DL Metionina	0.19	0.19	0.19	0.19	0.19
Premix (Vitaminas y minerales)	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10
Cloruro de Colina	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10
Adsorbente de micotoxinas	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10
Coccidiostato	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08
HCl Lisina	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
Treonina	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02
Antioxidante	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05
Antibiótico	0.05	----	----	----	----
Sulfato de Cobre	----	----	0.10	----	----
Oxícloruro de Cobre	----	----	----	0.05	----
CCTB	----	----	----	----	0.05
Valor Nutricional (Calculado)					
Energía Metabolizable, kcal kg ⁻¹	3,083	3,083	3,083	3,083	3,083
Proteína Bruta, %	19.00	19.00	19.00	19.00	19.00
Grasa total, %	7.25	7.25	7.25	7.25	7.25
Fibra Cruda, %	2.71	2.71	2.71	2.71	2.71
Calcio, %	0.96	0.96	0.96	0.96	0.96
Fósforo disponible, %	0.48	0.48	0.48	0.48	0.48
Lisina total, %	1.10	1.10	1.10	1.10	1.10
Metionina total, %	0.53	0.53	0.53	0.53	0.53
Met + Cís total, %	0.84	0.84	0.84	0.84	0.84
Treonina total, %	0.74	0.74	0.74	0.74	0.74
Triptófano, %	0.21	0.21	0.21	0.21	0.21
Sodio, %	0.17	0.17	0.17	0.17	0.17

Cuadro 4: Composición porcentual y valor nutritivo de las dietas experimentales empleadas en la etapa de acabado (23 a 40 días).

	TRATAMIENTOS				
	T1	T2	T3	T4	T5
Maíz	62.42	62.42	62.42	62.42	62.42
Torta de Soya	27.41	27.41	27.41	27.41	27.41
Aceite de Soya	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00
Fosfato dicalcico	1.91	1.91	1.91	1.91	1.91
Subproducto de Trigo	0.28	0.28	0.28	0.28	0.28
Carbonato de calcio	0.80	0.80	0.80	0.80	0.80
Sal Común	0.36	0.36	0.36	0.36	0.36
DL Metionina	0.23	0.23	0.23	0.23	0.23
Premix (Vitaminas y minerales)	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10
Cloruro de Colina	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10
Adsorbente de micotoxinas	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10
Coccidiostato	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
HCl Lisina	0.14	0.14	0.14	0.14	0.14
Treonina	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05
Antioxidante	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02
Antibiótico	0.05	----	----	----	----
Sulfato de Cobre	----	----	0.10	----	----
Oxícloruro de Cobre	----	----	----	0.05	----
CCTB	----	----	----	----	0.05
Valor Nutricional (Calculado)					
Energía Metabolizable, kcal kg ⁻¹	3,176	3,176	3,176	3,176	3,176
Proteína Bruta, %	18.00	18.00	18.00	18.00	18.00
Grasa total, %	8.83	8.83	8.83	8.83	8.83
Fibra Cruda, %	2.72	2.72	2.72	2.72	2.72
Calcio, %	0.90	0.90	0.90	0.90	0.90
Fósforo disponible, %	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45
Lisina total, %	1.05	1.05	1.05	1.05	1.05
Metionina total, %	0.52	0.52	0.52	0.52	0.52
Met + Cis total, %	0.82	0.82	0.82	0.82	0.82
Treonina total, %	0.72	0.72	0.72	0.72	0.72
Triptófano, %	0.21	0.21	0.21	0.21	0.21
Sodio, %	0.16	0.16	0.16	0.16	0.16

Cuadro 5: Composición de la premezcla de vitaminas y minerales (Por kilogramo de premezcla).

Componente	Cantidad
Retinol	12 000 000. 000 UI
Colecalciferol	2 500 000. 000 UI
DL Alfa Tocoferol Acetato	30 000. 000 UI
Riboflavina	5.500 g
Piridoxina	3.000 g
Cianocobalamina	0.015 g
Menadiona	3.000 g
Acido Fólico	1.000 g
Niacina	30.000 g
Acido Pantoténico	11.000 g
Biotina	0.150 g
Zinc	45.000 g
Hierro	80.000 g
Manganeso	65.000 g
Cobre	8.000 g
Yodo	1.000 g
Selenio	0.150 g
Excipientes c.s.p.	1 000. 000 g

Cuadro 6: Cantidad de cobre en las dietas experimentales¹.

	TRATAMIENTOS*				
	T1	T2	T3	T4	T5
COBRE, ppm	10	10	242	240	238

* Para obtener la muestra por tratamiento se juntaron y mezclaron 250 gramos de las dietas de inicio, crecimiento y acabado, obteniéndose de esta forma la muestra final que fue llevada a analizar.

1 Determinada en el Laboratorio de Certificaciones del Perú S.A. (CERPER).

3.5 Sanidad.

A los 21 días de edad los pollos fueron vacunados con la vacuna triple para Gumboro, Bronquitis y Newcastle por el método ocular.

3.6 Mediciones.

3.6.1 Parámetros productivos

a. Peso Vivo y Ganancia de Peso

Los pesos de las aves fueron tomados el primer día, posteriormente el control de los pesos se llevó a cabo semanalmente en forma individual, obteniéndose los pesos promedios por lote, para determinar la ganancia de peso, anotándose en un cuaderno control.

b. Consumo de Alimento

El control semanal de consumo de alimento se llevó a cabo sumando los repartos en la semana menos el residuo al final de esta, obteniéndose el promedio del lote.

c. Conversión alimenticia

La conversión alimenticia semanal se obtuvo de la relación consumo de alimento a los 21 días entre la ganancia de peso, de la misma forma se procedió a los 40 días.

Para el cálculo de la conversión alimenticia (C.A.) se emplearon las siguientes fórmulas:

$$\text{C.A. del período} = \frac{\text{Consumo de alimento del período}}{\text{Ganancia de peso del período}}$$

$$\text{C.A. total} = \frac{\text{Consumo de alimento total}}{\text{Peso vivo}}$$

d. Rendimiento de Carcasa

Los pollos fueron beneficiados a los 40 días de edad, seleccionándose 2 pollos por cada unidad experimental correspondientes al promedio, los cuales fueron puestos en ayuno durante 15 horas, siendo luego pesados y beneficiados. Las aves fueron peladas mediante un escaldado con agua hirviente. Para la determinación del rendimiento de carcasa se consideró como tal al ave eviscerada sin cabeza y patas. Se registraron los siguientes pesos: vivo y eviscerado. Con los datos se determinó el rendimiento al beneficio.

e. Retribución económica del alimento

Para realizar el cálculo de la retribución económica del alimento se consideró como ingresos los kg de pollo producidos y como egresos el consumo de alimento.

3.7 Metodología de la morfometría intestinal.

En el día 40 se colectaron 3 segmentos del intestino delgado de 2 cm cada uno. El primer segmento a colectar se ubicó al inicio del duodeno (duodeno craneal); el segundo se ubicó a unos 2 cm de la salida del colédoco (duodeno caudal); mientras que el tercero correspondió al yeyuno, el cual se ubicó a unos 8 cm antes del divertículo de Meckel. Para ello se usaron 2 aves por cada unidad experimental.

Las aves seleccionadas presentaron un buen estado sanitario y una conformación corporal saludable.

Se colectaron tres segmentos de 2 cm de intestino delgado:

1. Del duodeno craneal, se practicó un corte al inicio del asa duodenal.

2. Del duodeno caudal, se practicó un corte a 2 cm de la salida del colédoco.
3. Del yeyuno se procedió a seccionar un punto ubicado 5 cm antes del divertículo de Meckel.

Las muestras fueron remitidas al Laboratorio de Patología de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

El procedimiento del laboratorio fue el mismo que el empleado por Eusebio (2007), la muestra se retiró del fijador y se lavó con agua corriente por lo menos 12 horas para proseguir con la deshidratación la cual se llevó a cabo en 4 pasos:

- Dos baños con alcohol de 70⁰ por 1 hora cada uno.
- Dos baños con alcohol de 95⁰ por 3 horas cada uno, hasta 21 horas con alcohol de 100⁰ cambiándolo luego por alcohol-xilol, mezcla de ambas sustancias en proporciones iguales por media hora.
- Dos baños con xilol puro, de media hora cada uno, hasta que las muestras se vean transparentes.

Posteriormente, las muestras fueron pasadas por parafina por media hora, dándose así, el primer baño. Para el segundo baño se dejó las piezas por media hora más, seguidamente se llevó a cabo la inclusión en los moldes de parafina respectivos.

Los tacos de parafina se llevaron al micrótopo y se realizaron cortes seriados de 5 micras de espesor. Estos cortes se extendieron en gelatina, se colocaron en láminas portaobjetos y se llevaron a la plancha a secar por 24 horas.

Finalmente se realizó la colocación de hematoxilina-eosina para lo cual se siguieron los siguientes pasos:

1. Desparafinado en xilol por 5 minutos.
2. Desparafinado en alcohol por 5 minutos
3. Desparafinado en alcohol de 95⁰ por 5 minutos.
4. Desparafinado en alcohol de 70⁰ por 5 minutos.
5. Desparafinado en agua destilada por 5 minutos

6. Coloreado con hematoxilina por 2 a 3 minutos.
7. Lavado con alcohol de 95^o por 1 minuto.
8. Deshidratación en alcohol absoluto por 5 minutos.
9. Aclaración en xilol mediante 3 cambios por 5 minutos cada uno.
10. Montaje de lámina en una laminilla con una gota de Per Mount.

Una vez preparadas las láminas histológicas, con 4 cortes histológicos cada una, perteneciente a las 2 aves muestreadas por cada unidad experimental, se procedió a realizar las mediciones siguiendo una adaptación del protocolo de evaluación utilizado por Batista de Olivera *et al.*, (2000).

Se realizaron como mínimo 15 mediciones en cada lámina histológica para la altura y grosor de vellosidad y profundidad de cripta. Las mediciones se realizaron usando un microscopio óptico que contaba con un ocular micrométrico. Para tomar las mediciones de altura y ancho de vellosidad y profundidad de cripta se usó el objetivo de 10x y para el conteo de células caliciformes y de lámina propia, el objetivo de 40x. El cálculo de las mediciones se realizó utilizando un factor de corrección, multiplicando el factor del objetivo (0.010) por el número de líneas que abarca el tamaño del ocular micrométrico por 1000, dándonos el valor en micrómetros (μm).

3.7.1 Mediciones morfométricas.

a. Altura de vellosidad

Se seleccionaron vellosidades íntegras y perpendiculares a la pared intestinal. El promedio de las alturas de vellosidades de las 8 láminas histológicas (2 por cada repetición), fue el promedio de la altura de vellosidades de cada tratamiento.

b. Grosor de vellosidad

El grosor de las vellosidades fue medido en el punto medio de la vellosidad de cada lámina. El promedio del grosor de vellosidad de las 8 láminas histológicas (2 por cada repetición), fue el promedio del grosor de vellosidad de cada tratamiento.

c. Número de células caliciformes

Se cuantificó el número de células caliciformes de cada una de las vellosidades intestinales seleccionadas. Para el análisis estadístico, se sumó el conteo de las vellosidades, el cual representó a cada unidad experimental.

d. Profundidad de cripta

Se midieron las profundidades de criptas comprendidas entre las vellosidades seleccionadas para la medición de la altura de vellosidad, en cada lámina histológica. El promedio de la profundidad de cripta de las láminas histológicas fue el promedio de la profundidad de cripta de cada tratamiento.

e. Relación entre la altura de vellosidad y la profundidad de cripta

Esta relación resultó de la división del promedio de la altura de vellosidad y el promedio de la profundidad de cripta de cada lámina histológica de unidad experimental.

$$\text{Relación} = \frac{\text{Altura de vellosidad intestinal}}{\text{Profundidad de cripta intestinal}}$$

f. Área de vellosidad

El área de la vellosidad fue hallada asumiendo que la vellosidad tiene una forma rectangular, siguiendo un protocolo de evaluación modificado al usado por Zhang *et al.*, (2002) citado por Eusebio (2007). Se usó la siguiente fórmula:

Área de vellosidad = altura de la vellosidad* x grosor de la vellosidad*

(* Promedio de medición de cada lámina histológica o unidad experimental).

3.8 Cobre en hígado.

En el día 40 del experimento, 2 aves por repetición fueron aleatoriamente seleccionadas para tomar muestras de hígado para análisis de concentración de cobre. Los hígados fueron congelados individualmente en bolsas plásticas selladas al calor y almacenados en una caja de polietileno para su transporte y posterior análisis de cobre.

La concentración de cobre en el hígado fue determinada mediante espectrofotometría de absorción atómica, utilizando la metodología de la Norma Oficial Mexicana (NOM-117-SSA1-1994). El límite de cuantificación fue de 0.007 mg/kg.

3.9 Diseño experimental.

Se empleó el Diseño Completamente al Azar (DCA), (Calzada, 1982) con cuatro repeticiones por tratamiento y la comparación de medias se realizó utilizando la Prueba de Duncan (Duncan, 1955). La unidad experimental estuvo constituida por 10 aves.

El modelo aditivo lineal fue el siguiente:

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + e_{ij}$$

Donde:

Y_{ij} = Valor o rendimiento en la j-ésima UE a la que se le aplicó el i-ésimo tratamiento

μ = Media poblacional.

τ_i = Efecto del i-ésimo tratamiento.

e_{ij} = Error experimental

Para analizar los datos, se utilizó el paquete estadístico de SAS (Statistical Analysis System, SAS Institute, 1990)

IV RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Efecto de la fuente de cobre sobre el comportamiento productivo en pollos.

El Cuadro 7 muestra el efecto de la fuente de cobre sobre el comportamiento productivo de los pollos de 0 a 40 días de edad. El peso de los pollos al inicio del experimento fue similar, no encontrándose diferencia estadística significativa entre los grupos ($p>0.05$).

El peso de los pollos a los 7, 14, 21, 28, 35 y 40 días de edad, se puede observar en el Anexo I. En la primera (7 días) y segunda semana de edad (14 días) no se observa diferencia estadística significativa. Al día 21 (tercera semana), se observó que el T3, con sulfato de cobre, fue menor y estadísticamente diferente mediante la prueba de Duncan, al resto de tratamientos. En el día 28, el T4 (oxicloruro de cobre), muestra mayor peso, diferente mediante Duncan a los Tratamientos T1, T2 y T3 pero no al T5. En el día 35, el Tratamiento 4 (oxicloruro de cobre) presenta el mayor peso del grupo (2430 g), hallándose diferencia mediante la prueba de Duncan, solamente con el T1 que contiene antibiótico (2289 g).

La misma tendencia se observa en el día 40 en el cual el Tratamiento 4 (2887 g) presenta el mayor peso vivo pese a que no existe diferencia estadística entre los grupos ($p>0.05$). Estos resultados guardan relación con los experimentos publicados por Guo *et al.*, (2001); Skrivan *et al.*, (2002) y Brainer *et al.*, (2003) quienes tampoco encontraron diferencias estadísticas en el peso vivo de los pollos en el día 40 al suplementar con fuentes de cobre.

Se puede observar que es a partir de la cuarta semana, donde el Tratamiento 4 (oxicloruro de cobre) presenta el mayor peso del grupo, manteniéndose esta tendencia hasta el final del período de experimentación. Por otro lado, cabe señalar que existe una diferencia de 4.0 %, entre el mejor peso alcanzado del grupo perteneciente al Tratamiento 4, y el menor peso del grupo I, en el último periodo.

En este experimento el Tratamiento 1 (antibiótico) no encontró diferencias significativas favorables en los parámetros productivos como suele reportarse en la literatura

Cuadro 7: Efecto de la fuente de cobre sobre el comportamiento productivo de pollos (0 a 40 días de edad).

MEDICIÓN	TRATAMIENTOS ¹				
	T1	T2	T3	T4	T5
Peso Inicial, kg	51.43 ^{2a}	50.03 ^a	50.05 ^a	51.20 ^a	50.38 ^a
Peso Final, kg	2783.17 ^a	2770.24 ^a	2789.83 ^a	2886.97 ^a	2799.06 ^a
Ganancia de peso g/día	68.29 ^a	68.00 ^a	68.50 ^a	70.90 ^a	68.72 ^a
Consumo de alimento, g/día	116.20 ^a	113.36 ^a	103.93 ^b	112.74 ^a	110.80 ^{ab}
Conversión alimenticia	1.70 ^a	1.67 ^{ab}	1.52 ^c	1.57 ^{bc}	1.62 ^{abc}
Rendimiento de Carcasa, %	72.47 ^a	72.61 ^a	74.91 ^a	73.67 ^a	72.28 ^a
Mortalidad, %	20.00 ^b	12.50 ^{ab}	5.00 ^a	17.50 ^b	5.00 ^a

¹ T1: Grupo control positivo (con antibiótico); T2: Grupo control negativo (sin antibiótico); T3: Sulfato de Cobre; T4: Oxidocloruro de Cobre; T5: Cobre Clorado Tribásico (CCTB)

² Valores en promedio y desviación estándar de cuatro repeticiones de 10 aves cada una.

^{ab}: Valores con letras diferentes en la misma fila son significativamente diferentes ($p < 0.05$).

(Martínez, 1996) para los tratamientos que usan antibióticos con la finalidad de incrementar los parámetros productivos. Estos resultados concuerdan, no obstante con Romero (1998), Engberg *et al.*, (2000) y Gunal *et al.*, (2006) quienes tampoco hallaron diferencias entre animales tratados con antibióticos y animales tratados sin antibióticos. Así por ejemplo, Romero (1998) no halló diferencias estadísticas entre el grupo control (2060 g) y el grupo con zinc bacitracina (2041 g) a los 49 días. Al respecto, Arias y Koutsos (2006) señalan que los antibióticos a nivel subterapéutico, en un medio ambiente con baja carga bacteriana, pueden afectar negativamente a las bacterias comensales necesarias para la apropiada digestión, resultando en una disminución del crecimiento.

No obstante, estos resultados, se pueden comparar porcentualmente con otros trabajos. Martínez (1996) halló una diferencia estadística significativa favorable al tratamiento con zinc bacitracina (2945 g), sobre el grupo control (2812 g), el cual en términos porcentuales, representa una mejora de 4.5% para el período de 1 a 49 días. Colin *et al.*, (1994) tampoco encontraron diferencia estadística significativa, no obstante el tratamiento con zinc bacitracina fue mejor en 8.1%, con respecto al grupo control y en 2.3% al de un probiótico.

En este experimento la diferencia entre el Tratamiento 1 (grupo control positivo) y el grupo que obtuvo un mejor promedio de peso (T4: oxiclورو de Cobre) a los 40 días fue de 4.04 %, resultado similar en términos porcentuales al obtenido por Martínez (1996) en pollos de 49 días de edad (4.5%).

En el Cuadro 7, se observa el efecto de las fuentes de cobre, sobre el consumo de alimento. Se encontró diferencia estadística significativa ($p < 0.05$) para el consumo de alimento de 0 a 40 días favorable al Tratamiento 3 (sulfato de cobre) con 4157 g, sobre el T1 (antibiótico) con 4648 g, el T2 (sin antibiótico) con 4534 g y el T4 (4509 g).

En lo relacionado a ganancia de peso, en el Cuadro 7 se observa que no existe diferencia estadística significativa entre grupos ($p > 0.005$). Al separar por etapas se encontró diferencia estadística significativa favorable al T4 (oxiclورو de cobre) y T5 (CCTB) en el periodo de 0-21 días (Anexo IV). Por otro lado, se puede observar que el T4 (oxiclورو de cobre), es el que mejor ganancia de peso obtiene en los 3 períodos.

En el Cuadro 7, se observa el efecto de la fuente de cobre sobre la conversión alimenticia. Esta medida mostró diferencia estadística significativa ($p < 0.05$) favorable al T3 (sulfato de cobre: 1.52), sobre el T1 y T2, sin llegar a ser diferente al T4 (oxicloruro de cobre) y T5 (CCTB) para el periodo de 0-40 días. No se encontró diferencia estadística significativa para los periodos de 0 a 21, 0 a 28 o 0 a 35 días.

El mayor porcentaje de mortalidad, se presenta en el T1 (control positivo con antibiótico), seguido del T4 (oxicloruro de cobre) y del T2 (control negativo sin antibiótico). Al mismo tiempo se puede observar que los tratamientos T3 (sulfato de cobre) y T5 (CCTB), presentaron el menor porcentaje de mortalidad (Cuadro 7). Cabe destacar que ocurrió un brote de infección gastrointestinal, el cual se produjo aproximadamente a partir del día 21. En este, todos los animales de los tratamientos fueron afectados, no obstante se observó una mayor tendencia a resistir esta infección en los animales de los tratamientos T3 y T5, en los que la infección, al momento del sacrificio, debió encontrarse en estadio subclínico.

En el mismo cuadro, para el parámetro rendimiento de carcasa, no se encontró diferencia significativa, no obstante se puede observar que el Tratamiento 3 (sulfato de cobre), presenta mejor rendimiento, seguido del Tratamiento 4 (oxicloruro de cobre). Este resultado no concuerda con lo publicado por Arias y Koutsos (2006) quienes alimentando pollos con CCTB o sulfato de cobre obtuvieron mayores pesos de carcasa que los grupos a los cuales no se les suplementó con cobre. No obstante concuerda con el hecho de que en ambos experimentos no hubo diferencia estadística significativa entre los tratamientos con antibiótico y los tratamientos con fuentes de cobre. Es de señalar además que este experimento se realizó con las aves alojadas en baterías, a diferencia de Arias y Koutsos (2006) quienes utilizaron pollos alojados en corrales.

4.2 Efecto de la fuente de cobre sobre la retribución económica de alimento.

La retribución económica del alimento se observa en el Cuadro 8. No se encontró diferencia estadística significativa, pero sí una tendencia favorable a las fuentes de cobre, provenientes del T3 (sulfato de cobre) y T4 (oxicloruro de cobre) las que fueron superiores al Tratamiento 1 en 10.01% y 6.03%, respectivamente.

Cuadro 8: Retribución económica por pollos, según las dietas suministradas.

	TRATAMIENTOS ¹				
	T1	T2	T3	T4	T5
INGRESOS					
Peso vivo final del pollo (40 días) kg	2.783	2.770	2.790	2.887	2.799
Precio por kg de pollo	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0
Ingreso bruto por pollo (S/.)	13.916	13.851	13.949	14.435	13.995
EGRESOS					
Consumo de alimento kg/pollo (1-10 días)	0.264	0.256	0.246	0.261	0.267
Consumo de alimento kg/pollo (11-22 días)	1.258	1.323	1.259	1.324	1.308
Consumo de alimento kg/pollo (23-40 días)	3.126	2.956	2.653	2.924	2.856
Costo S/. x kg de alimento (1-10 días)	1.456	1.456	1.456	1.456	1.456
Costo S/. x kg de alimento (11-22 días)	1.443	1.443	1.443	1.443	1.443
Costo S/. x kg de alimento (23-40 días)	1.445	1.445	1.445	1.445	1.445
Costo de alimentación/pollo (S/.)	6.716	6.553	6.009	6.516	6.403
RETRIBUCIÓN ECONÓMICA					
Por pollo vivo (S/.)	7.199^a	7.297^a	7.941^a	7.919^a	7.592^a
Por kg de peso vivo (S/.)	2.587	2.635	2.846	2.743	2.712
Porcentaje (%)	100.00	101.86	110.01	106.03	104.83

¹ T1: Grupo control positivo (con antibiótico); T2: Grupo control negativo (sin antibiótico); T3: Sulfato de Cobre; T4: Oxidocloruro de Cobre; T5: Cobre Clorado Tribásico (CCTB).

* Precio correspondiente a la primera semana del mes de Abril del 2011.

* Para efecto de la comparación relativa se considera como referencia a las aves alimentadas con la dieta basal son antibiótico (T2).

4.3 Efecto de las fuentes de cobre sobre la concentración de cobre en el hígado.

La concentración de cobre en el hígado se presenta en el Cuadro 9. Solo se encontró diferencia significativa ($p < 0.05$) favorable al Tratamiento 5 (cobre clorado tribásico). A diferencia de Ewing *et al.*, (1998) quienes en su experimento encontraron niveles de cobre incrementados en el hígado, hasta en un 26%, usando sulfato de cobre pentahidratado y oxiclورو de cobre; en este experimento los niveles de cobre en el hígado se mostraron incrementados con diferencia estadística significativa favorable solo al Tratamiento 5 (CCTB). Esta mayor cantidad de cobre en el hígado de pollos suplementados con CCTB, se debería a la mayor biodisponibilidad, comprobado por Luo *et al.*, (2005) que presenta el CCTB ($109.0 \pm 3.4\%$) con respecto al sulfato de cobre (100%).

Cuadro 9: Efecto de la fuente de cobre sobre la concentración de cobre en el hígado en base seca.

TRATAMIENTOS ¹	CANTIDAD (mg/kg)
T1	3.75 ^b
T2	3.34 ^b
T3	3.76 ^b
T4	3.74 ^b
T5	4.80 ^a

^{ab}: Valores con letras diferentes en la misma columna son significativamente diferentes ($p < 0.05$).

¹ T1: Grupo control positivo (con antibiótico); T2: Grupo control negativo (sin antibiótico); T3: Sulfato de Cobre; T4: Oxiclورو de Cobre; T5: Cobre Clorado Tribásico (CCTB).

4.4 Efecto de las fuentes de cobre sobre la morfometría de las vellosidades intestinales.

En el Cuadro 10, se observa el resultado de los parámetros morfológicos del duodeno craneal. Los valores promedios de las medidas estudiadas del duodeno craneal no fueron influenciadas significativamente ($p > 0.05$) por las fuentes de cobre.

La altura de vellosidad del Tratamiento 2 (control negativo sin antibiótico) y del Tratamiento 3 (sulfato de cobre) es mayor que en el resto de tratamientos. El mayor ancho de vellosidad es presentado por el T5, seguido del T1; siendo el T2, el que presenta el menor ancho de vellosidad. Esto es adecuado, dado que estaría indicando que la vellosidad no ha sido sometida a procesos de hiperplasia, que se dan en presencia de procesos inflamatorios. La mayor área de vellosidad es presentada por el T1, seguido del T3.

Una menor profundidad de cripta, la cual es adecuada dado que esto implica que no se exagera la replicación del epitelio intestinal como ocurre en infecciones es presentada por el T3. Esto se puede correlacionar inmediatamente con la relación altura profundidad, la cual es mayor en el T3, corroborando el hecho de una mejor integridad del epitelio intestinal.

El número de células caliciformes no presenta diferencia estadística significativa ($p > 0.05$) entre tratamientos. Una menor cantidad de células caliciformes se encuentran Tratamiento 4, seguida del T3. No existe diferencia estadística significativa ($p < 0.05$) para la medida del grosor de lámina propia. La menor medida se ubica en el T5, seguida del T4 y T2.

Cabe señalar que la calidad de observación de vellosidades en este segmento del intestino fue menor que el de las otras 2 porciones, debido a que dada su mayor cercanía al estómago existe mayor abrasión del epitelio por las enzimas digestivas y el alimento en proceso de digestión.

Cuadro 10: Efecto de la fuente de cobre sobre la altura, ancho, área de vellosidad, profundidad de cripta, número de células caliciformes, grosor de lámina propia y relación altura con profundidad de cripta de las vellosidades intestinales del duodeno craneal.

TRATAMIENTOS¹	Altura de vellosidad (μm)	Ancho de vellosidad (μm)	Área de vellosidad (μm^2)	Profundidad de cripta (μm)	Células caliciformes	Grosor de lámina propia (μm)	Relación de altura con profundidad
T1	1273.70 ^a	195.30 ^a	26 476.20 ^a	178.50 ^a	83.01 ^a	5.58 ^a	7.27 ^a
T2	1423.70 ^a	180.90 ^a	23 835.90 ^a	185.70 ^a	90.17 ^a	5.29 ^a	7.83 ^a
T3	1411.80 ^a	191.60 ^a	26 245.60 ^a	158.70 ^a	77.13 ^a	5.30 ^a	9.04 ^a
T4	1326.30 ^a	182.60 ^a	24 789.20 ^a	182.50 ^a	75.70 ^a	5.29 ^a	7.27 ^a
T5	1270.50 ^a	208.40 ^a	23 353.00 ^a	177.50 ^a	85.12 ^a	5.16 ^a	7.25 ^a

^{ab}: Valores con letras diferentes en la misma columna son significativamente diferentes ($p < 0.05$).

¹ T1: Grupo control positivo (con antibiótico); T2: Grupo control negativo (sin antibiótico); T3: Sulfato de Cobre; T4: Oxiclورو de Cobre; T5: Cobre Clorado Tribásico (CCTB).

La morfología intestinal de la porción caudal del duodeno se observa en el Cuadro 11. La altura de las vellosidades no presenta diferencia estadística significativa ($p>0.05$), habiendo una tendencia mayor en T2 y T5.

La medida del ancho de vellosidad presenta diferencia estadística significativa ($p<0.05$) favorable al T2 (control sin antibiótico) y T3 (sulfato de cobre) sobre el T4 (oxicloruro de cobre), no encontrándose diferencias con T1 (control positivo con antibiótico) y T3 (sulfato de cobre). Este mayor ancho de vellosidades puede ser la consecuencia de una hiperplasia debido a una infección gastrointestinal que inicio el día 21 del experimento. En este caso, el menor ancho de vellosidad del Tratamiento 4 sin ser diferente al Tratamiento 5 (CCTB) estaría implicando un mejor efecto protector de esta fuente de cobre. De igual forma, se observa diferencia estadística significativa ($p<0.05$) en el área de vellosidades favorable al Tratamiento 2, sobre el Tratamiento 4, siendo similar a T1, T3 y T5.

Para el parámetro profundidad de cripta, no se encuentra diferencia estadística significativa ($p>0.05$) entre tratamientos. Una menor profundidad de cripta se puede observar en el Tratamiento 3, seguida de T3 y T4. Un mayor tamaño de profundidad de cripta se encuentra en el Tratamiento 4, lo cual estaría indicando una mayor tasa de renovación epitelial.

La cantidad de células caliciformes no presenta diferencia estadística significativa ($p>0.05$) entre tratamientos. La menor cantidad de células caliciformes se ubica en el Tratamiento 4, seguido del T1. En la medida del grosor de lámina propia, no se observa diferencia estadística significativa ($p>0.05$) siendo menor en el T4, seguida del T1. Finalmente, no existe diferencia estadística significativa para la medida relación de altura con profundidad de cripta. La mejor relación se encuentra en el T1, seguido del T4 y T3.

Cuadro 11: Efecto de la fuente de cobre sobre la altura, ancho, área de vellosidad, profundidad de cripta, número de células caliciformes, grosor de lámina propia y relación altura con profundidad de cripta de las vellosidades intestinales del duodeno caudal.

TRATAMIENTOS ¹	Altura de vellosidad (μm)	Ancho de vellosidad (μm)	Área de vellosidad (μm^2)	Profundidad de cripta (μm)	Células caliciformes	Grosor de lámina propia (μm)	Relación de altura con profundidad
T1	1263.10 ^a	169.30 ^{ab}	21 236.40 ^{ab}	181.50 ^a	82.05 ^a	4.41 ^a	7.02 ^a
T2	1381.70 ^a	185.20 ^a	25 075.30 ^a	178.90 ^a	82.35 ^a	4.72 ^a	7.84 ^a
T3	1249.20 ^a	178.20 ^a	21 448.00 ^{ab}	175.00 ^a	78.67 ^a	4.85 ^a	7.31 ^a
T4	1286.00 ^a	147.60 ^b	18 476.80 ^b	185.00 ^a	80.97 ^a	4.09 ^a	7.10 ^a
T5	1380.60 ^a	168.50 ^{ab}	23 943.50 ^{ab}	178.80 ^a	87.93 ^a	4.66 ^a	7.83 ^a

^{ab}: Valores con letras diferentes en la misma columna son significativamente diferentes ($p < 0.05$).

¹ T1: Grupo control positivo (con antibiótico); T2: Grupo control negativo (sin antibiótico); T3: Sulfato de Cobre; T4: Oxiclورو de Cobre; T5: Cobre Clorado Tribásico (CCTB).

En el Cuadro 12, se observa el resultado del estudio en el yeyuno. La altura de vellosidades presenta diferencia estadística significativa favorable ($p < 0.05$) a los tratamientos T4, T5 y T3, sobre el T1 (control positivo con antibiótico); sin ser diferente del T2 (control negativo sin antibiótico). Al respecto de esto último, Gunan *et al.*, (2006) no encontraron diferencia estadística significativa para altura de vellosidades entre tratamientos con antibiótico y sin antibiótico, no obstante la altura de vellosidades si presentó en su experimento, diferencia estadística favorable al uso de probióticos.

De igual forma se encuentra diferencia estadística significativa ($p < 0.05$) en el área de vellosidad, favorable a T5 (CCTB), T4 (Oxicloruro de Cobre) y T3 (Sulfato de Cobre) sobre el Tratamiento I (control positivo con antibiótico).

El ancho de vellosidad, no presenta diferencia estadística significativa ($p > 0.05$). El mayor ancho de vellosidad en este segmento es presentado por el T5, seguido del T3, siendo el menor ancho el del Tratamiento 1. En la medida de profundidad de cripta tampoco se encuentra diferencia estadística significativa ($p > 0.05$). La menor profundidad de cripta es alcanzada por el T2, seguido del T3. El T4 presenta una profundidad de cripta mayor.

Al análisis de resultados del número de células caliciformes, no se hallaron diferencias significativas ($p > 0.05$) entre los tratamientos. La menor cantidad de este tipo de células se ubica en el T2, seguido del T4. Un mayor conteo en este tipo células se ubica en el T3.

La medida del grosor de lámina propia no presenta diferencia estadística significativa ($p > 0.05$). El menor grosor en esta medida es presentada por el T4, seguido del T2. Finalmente, la relación altura profundidad de cripta no presenta diferencia estadística significativa ($p < 0.05$). La mayor relación altura profundidad de cripta, es alcanzada por el T3 como en el duodeno craneal, seguida del T5 y del T2.

Cuadro 12: Efecto de la fuente de cobre sobre la altura, ancho, área de vellosidad, profundidad de cripta, número de células caliciformes, grosor de lámina propia y relación altura con profundidad de cripta de las vellosidades intestinales del yeyuno.

TRATAMIENTOS ¹	Altura de vellosidad (μm)	Ancho de vellosidad (μm)	Área de vellosidad (μm^2)	Profundidad de cripta (μm)	Células caliciformes	Grosor de lámina propia (μm)	Relación de altura con profundidad
T1	985.00 ^b	122.10 ^a	12 162.20 ^b	140.10 ^a	143.97 ^a	4.65 ^a	7.15 ^a
T2	1063.70 ^{ab}	124.20 ^a	13 446.30 ^{ab}	125.10 ^a	116.29 ^a	4.41 ^a	8.65 ^a
T3	1173.60 ^a	147.90 ^a	17 452.80 ^a	131.70 ^a	172.16 ^a	5.29 ^a	9.11 ^a
T4	1174.50 ^a	142.70 ^a	16 957.40 ^a	145.60 ^a	147.22 ^a	4.38 ^a	8.33 ^a
T5	1173.30 ^a	148.80 ^a	17 866.00 ^a	139.00 ^a	153.36 ^a	4.94 ^a	9.02 ^a

^{ab}: Valores con letras diferentes en la misma columna son significativamente diferentes ($p < 0.05$).

¹ T1: Grupo control positivo (con antibiótico); T2: Grupo control negativo (sin antibiótico); T3: Sulfato de Cobre; T4: Oxiclورو de Cobre; T5: Cobre Clorado Tribásico (CCTB).

El efecto de la suplementación con cobre sobre el intestino presenta diferencia estadística significativa ($p < 0.05$) favorable a los tratamientos con cobre (oxicloruro de cobre, CCTB y sulfato de cobre), sobre todo en el ancho y área de las vellosidades del duodeno caudal, así como también en el área de las vellosidades intestinales del yeyuno, haciéndose evidente una relación con los mayor ganancia de peso y los mejores índices de consumo y conversión alimenticia observada en dichos tratamientos. No obstante, este resultado, no se repite en el duodeno craneal donde no existe diferencia estadística entre tratamientos ($p > 0.05$), siendo el T2 (control negativo sin antibiótico) y T3 (sulfato de cobre) los que registran una mejor tendencia. Estos resultados coinciden con Xia *et al.*, (2004) y Arias y Koutsos (2006), quienes señalan que fuentes diferentes de cobre, como el sulfato de cobre, el CCTB o Cu-MMT, afectan diferentes áreas del intestino delgado. Cabe señalar que durante el experimento los animales pasaron por un estadio de infección gastrointestinal, el cual entre otras cosas puede ser la causa del incremento en el ancho de las vellosidades por hiperplasia y por tanto en el área, en estas secciones anteriores de forma particular.

En el duodeno caudal el menor ancho de vellosidad registrado por el T4 (147 μm), el cual no es diferente estadísticamente del T5, se debería a un mayor efecto protector de la fuente de cobre sobre la infección intestinal que se produjo en este experimento. Este hallazgo contrasta con el mayor ancho de vellosidad que presenta el T2 (185 μm), debido al proceso de hiperplasia. Arias y Koutsos (2006), encontraron una menor cantidad de linfocitos en el duodeno de animales suplementados con cobre, en relación a un control negativo sin suplementación.

En el yeyuno la mayor altura de vellosidad (1173 μm) presentada por los tratamientos con fuente de cobre sobre el T1, coincide con lo reportado por Xia *et al.*, (2004) quienes encontraron que el cobre en forma de Cu-MMT (montmorillonite de cobre portante) influye sobre la altura de vellosidades.

La razón por la cual la altura de las vellosidades es diferente entre los diferentes segmentos del intestino, especialmente entre el duodeno y el yeyuno, en la que el segundo es menor que el primero, es debido a una característica de orden morfológico normal del intestino (Cormack, 1986).

Por otro lado, Xia *et al.*, (2004) señalan que los cambios en la morfología intestinal, tales como vellosidades más cortas y criptas más profundas son ocasionados por la presencia de toxinas. La poca altura de las vellosidades disminuye el área de superficie de absorción de nutrientes. La cripta es el área donde las células madre se dividen para permitir la renovación de las vellosidades; una cripta más larga indica recambio de tejido rápido y una alta demanda de tejido nuevo. Esta situación, de vellosidades altas y criptas cortas, se puede observar en el duodeno craneal de este experimento para el caso del sulfato de cobre, el cual presenta la mejor relación altura/profundidad de cripta. En el duodeno caudal, la mejor relación altura/profundidad de cripta es obtenida por el control negativo y el Tratamiento 5 (CCTB). Finalmente, en el yeyuno, son los tratamientos T3 (sulfato de cobre) y T5 (CCTB) los que presentan la mejor relación. Se observa que a partir de las porciones más distales el CCTB, empieza a cobrar relevancia en esta relación. No obstante esta tendencia, no presenta una diferencia estadística significativa ($p < 0.05$) para ninguno de los segmentos señalados.

Arias y Koutsos (2006) ensayan una hipótesis que podría explicar esta tendencia, en la cual diferentes fuentes de cobre pueden afectar diferentes segmentos del intestino. De esta forma, el sulfato de cobre puede ser más eficaz en el intestino proximal (duodeno) debido a la disociación de Cu^{2+} a partir del SO_4^{2-} , el cual puede luego unirse al prevalente ion H^+ en el duodeno. El CCTB puede tener más eficacia en el yeyuno debido a que el cloro (Cl) se disocia con el Cu y se une, ya sea a los cationes monovalentes (K^+ , Na^+ o P^+) o participa en la bomba Na^+/K^+ permitiendo al cobre asociarse con el intestino delgado en el intestino distal.

V CONCLUSIONES

1. Las fuentes de cobre no tuvieron influencia significativa sobre la ganancia de peso de las aves; sin embargo, la adición de cobre en forma de sulfato de cobre mejoró la conversión y el consumo de alimento en aves.
2. La adición de cobre en forma de cobre clorado tribásico resultó en una mayor deposición de cobre en el hígado.
3. La morfometría intestinal del duodeno caudal, en ancho y área de vellosidad, así como la del yeyuno en altura y área de vellosidad, fueron influenciadas significativamente por la fuente de cobre en la dieta.

VI . RECOMENDACIONES.

- 1) Utilizar cobre en la forma de sulfato de cobre a razón de 250 ppm para mejorar el consumo de alimento y la conversión alimenticia.
- 2) Evaluar el efecto de las fuentes de cobre sobre los contenidos de grasa y tejido magro de la carcasa de pollo.
- 3) Evaluar el efecto de las diferentes fuentes de cobre sobre la deposición de tejido adiposo, y aumento de tejido magro, dado sus efectos metabólicos como el de intervenir en el metabolismo del colesterol y de los lípidos entre otros.

VII REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABAZA, I.M., EZZAT, W., SHOEIB, M.S., EI-ZAIAT, A.A., HASSAN, I.I. 2009. Effects of copper sulfate on productive, reproductive performance and blood constituents of laying japanese quail fed optimal and sub-optimal protein. *International Journal of Poultry Science*. 1: 80-89.
- AO, T., PIERCE, J.L., POWER, R., PESCATORE, A.J., CANTOR, A.H., DAWSON, K.A., FORD, M.J. 2009. Effects of feeding different forms of zinc and copper on the performance and tissue mineral content of chicks. *Poultry Science* 88: 2171-2175.
- AOYAGI, S., BAKER, D.H., WEDEKIND, K.J. 1993. Estimates of copper bioavailability from liver of different animal species and from feed ingredients derived from plants and animals. *Poultry Science*. 1746-1755.
- AOYAGI, S., BAKER, D.H. 1993a. Nutritional evaluation of copper-lysine and zinc-lysine complexes for chicks. *Poultry Science*. 72: 165-171.
- AOYAGI, S., BAKER, D.H. 1993b. Nutritional evaluation of a copper-methionine complex for chicks. *Poultry Science*. 72: 2309-2315.
- APGAR, G.A., KORNEGAY, E.T., LINDERMANN, M.D., NOTTER, D.R. 1995. Evaluation of copper sulfate and copper lysine complex as growth promoters for weanling swine. *Journal of Animal Science*. 73: 2640-2646.
- ARIAS, V.J., KOUTSOS, E.A. 2006. Effects of copper source and level on intestinal physiology and growth of broiler chickens. *Poultry Science* 85: 999-1007.
- ARTHUR, J.R., BOYNE, R. 1981. Effects of selenium and copper deficiency on neutrophil functions in cattle. *Journal of Comparative Pathology*. 91:271-276.

- ARTHUR, J.R., BOYNE, R. 1985. Superoxide dismutase and glutathione peroxide activities in neutrophils from selenium deficient and copper deficient cattle. *Life Sciences*. 8: 1139-1144.
- BABU, U., FAILLA, ML. 1990. Copper status and function of neutrophils are reversibly depressed in marginally and severely copper-deficient rats. *Journal of Nutrition*. 120:1700-1709.
- BALA, S., FAILLA, M. 1992. Copper deficiency reversibly impairs DNA synthesis in activated T lymphocytes by limiting interleukin 2 activity. *Applied Biological Science*. 89: 6794-6797.
- BANKS, K.M., THOMPSON, K.L., RUSH, J.K., APPLGATE, T.J. 2004a. Effects of copper source on phosphorus retention in broiler chicks and laying hens. *Poultry Science*. 83:990-996.
- BANKS, K.M., THOMPSON, K.L., JAYNES, P., APPLGATE, T.J. 2004b. The effects of copper on the efficacy of phytase, growth and phosphorus retention in broiler chicks. *Poultry Science*. 83:1335-1341.
- BANKS, W.J. 1986. *Applied Veterinary Histology*. 2da Edition Baltimore. Williams & Williams.
- BAKALLI, R.I., PESTI, G.M., RAGLAND, W.L., KONJUFCA, V. 1995. Dietary copper in excess of nutritional requirement reduces plasma and breast muscle cholesterol of chickens. *Poultry Science*. 74: 360-365.
- BAKER, D.H., ODLE, J., FUNK, M.A., WIELAND, T.M. 1991. Bioavailability of copper in cupric oxide, cuprous and in copper-lysine complex. *Poultry Science*. 70:177-179.
- BAKER, D.H. 2005. *Comparative nutrition and metabolism: Explication of open questions with emphasis on protein and aminoacids*. *Agricultural Sciences*. 17897-17902.

- BATISTA DE OLIVEIRA, P., MURAKAMI, A.E., DE MORAES GARCIA, E.R., MACARI, M., SCAPINELLO, C. 2000. Influence of antinutritional factors of leucaena (*leucaena leucocephala* and *leucaena cunninggan*) and pigeon bean (*cajanus cajan*) on the intestinal epithelium and performance of broiler chickens. *Revista Brasileira de Zootecnia*. 29:1759-1769.
- BRAINER, M.M., MACHADO, J.F., MARTINEZ, M., DAROZ, S.C. 2003. Cupric citrate as growth promoter for broiler chickens in different rearing stages. *Scientiae Agricola*. 3:441-445.
- BUNCH, R.J., SPEER, V.C., HAYS, V.W., HAWBAKER, J.H., CATRON, D.V. 1961. Effect of copper sulfate, copper oxide and chlorotetracycline on baby pig performance of pigs. *Journal of Animal Science*. 20: 723-726.
- CALZADA, J. 1982. *Métodos Estadísticos para la Investigación*. Lima, Perú. Edit. Jurídica. 644 pp.
- CHIOU, P.W.S., CHEN, C.L., CHEN, K.L., WU, C.P. 1999. Effect of high dietary copper on the morphology of gastro-intestinal tract in broiler chickens. *Asia-Australian Journal of Animal Science*. 4:548-553.
- CHURCH, D.C., POND, W.G., POND, K.R. 2007. *Fundamentos de Nutrición y Alimentación de Animales*. Editorial Limusa Wiley. México. 636 pp.
- CLEGG, M.S., FERREL, F., KEEN, C.L. Hypertension-induced alterations in copper and zinc metabolism in Dahl rats. *Journal of the American Heart Association*. 9:624-628.
- COATES, M.E., FULLER, R., HARRISON, G.F., LEV, M., SUFFOLK, S.F. 1963. A comparison of the growth of chicks in the Gustafsson germ-free apparatus and in a conventional environment, with and without dietary supplements of penicillin. *British Journal of Nutrition*. 17:141-151.
- COLIN, L., MORALES, E., AVILA, E. 1994. Evaluación de promotores de crecimiento para pollos de engorda. *Veterinaria México*. 141-144.

- CORMACK, D.H. 1986. Fundamentos de Histología. Editorial Harla. México. pp. 106.
- DAVIES, N.T., NIGHTINGALE, R. 1975. The effects of phytate on intestinal absorption and secretion of zinc, and whole-body retention of Zn, copper, iron and manganese in rats. *British Journal of Nutrition*. 243-258.
- DEVLIN, T.M. 2000. Bioquímica. Libro de Texto con Aplicaciones Clínicas. Tomo 2. Editorial Reverte, S.A. 3era Edición. Barcelona, España. 1148 pp.
- DISILVESTRO R.A., HARRIS, ED. 1981. A postabsorption effect of L-ascorbic acid on copper metabolism in chicks. *Journal of Nutrition*. 111: 1964-1968.
- DOVE, C.R., EWAN, R.C. 1990. Effect of excess dietary copper, iron or zinc on the tocopherol and selenium status of growing pigs. *Journal of Animal Science*. 64:2407-2413.
- DUNCAN, D.B. 1955. Multiple Range and Multiple *F* Test. 1: 1-42.
- DUPONT, D.P., DUHARNEL, G.E., CARLSON, M.P., MATHIESEN, M.R. 1994. Effect of divalent cations on hemolysin synthesis by *Serpulina* (Treponema) *hyodysenteriae*: inhibition induced by zinc and copper. *Veterinary Microbiology*. 41: 63-73.
- ENBERG, R.M., HEDERANN, M.S., LESER, T.D., JENSEN. B.B. 2000. Effect of zinc bacitracin and salinomycin on intestinal microflora and performance of broiler. *poultry Science*. 79: 1311-1319.
- EUROPEAN COMMISSION, 2003. Opinion of the scientific committee for animal nutrition on the use of copper in feedingstuffs.
- EUSEBIO, P. 2007. Evaluación de la suplementación de extracto de levadura (*Saccharomyces cerevisiae*) en la dieta de pre-inicio sobre el comportamiento productivo y la morfometría intestinal en pollos de carne. Tesis Zootecnista. Lima. Perú. UNALM. 117 pp.

- EVANS, J.L., ABRAHAM, P.A. 1973. Anemia, iron storage and ceruloplasmin in copper nutrition in the growing rat. *Journal of Nutrition*. 103: 196-201.
- EWING, H.P., PESTI, G.M., BAKALL, R.I., MENTEN, J.F. 1998. Studies on the feeding of cupric sulfate pentahydrate, cupric citrate, and copper oxychloride to broiler chickens. *Poultry Science* 77: 445-448.
- FISHER, G., LAURSEN-JONES, A.P., HILL, K.J., HARDY, W.S. 1973. The effect of copper sulphate on performance and the structure of the gizzard in broilers. *British Poultry Science*. 1:55-68.
- FORBES, M., PARK, J.T. 1959. Growth of germ-free and conventional chicks: effect of diet, dietary penicillin and bacterial environment. *British Journal of Nutrition*. 1: 69-84.
- GUNAL, M., YAYLI, G., KAYA, O., KARAHAN, N., SULAK, O. 2006. The effects of antibiotic growth promoter, probiotic or organic acid supplementation on performance, intestinal microflora and tissue of broilers. *International Journal of Poultry Science*. 2: 149-155.
- GUO, R., HENRY, P.R., HOLWENDA, R.A., CAO, J., LITTLE R.C., MILES R.D., AMMERMAN, C.B. 2001. Chemical characteristics and relative bioavailability of supplemental organic copper sources for poultry. *Journal of Animal Science*. 79:1132-1141.
- HARRIS, E.D. 1992. Copper as a cofactor and regulator of copper, zinc superoxide dismutase. *Journal of Nutrition*. 122: 636-640.
- HART, E.B., STEENBOCK, H., WADDELL, J., ELVEHJEM, C.A. 1928. Iron in nutrition. 7. Copper as a supplement to iron for hemoglobin building in the rat. *Journal of Biological Chemistry* 77:797-812.
- HILL, CH., MATRONE, G. 1970. Chemical parameters in the study of in vivo and in vitro interactions of transition elements. *Federation Proceedings*. 29:1474-1481.

- HOOGE, D.M., STEWARD, F.A., MCNAUGHTON J.L. 1998. Improved stabilities of vitamin A, D₃, E and riboflavin with tribasic copper chloride (TBCC) compared to copper sulfate pentahydrate in crumbled broiler starter feed. *Poultry Science*. 79 (Suppl. 1); 43-44.
- JONDREIVILLE, C., REVY P.S., JAFFEREZIC, A., DOURMAND, J.Y. 2002. Le cuivre dans l'alimentation du porc: oligo-element essential, facteur de croissance et risqué potentiel pour l'Homme et l'environnement. *INRA Production Animal*. 15:247-265.
- JUNQUEIRA, L.C., CARNEIRO, J. 1987. *Histología Básica*. 3 Edición. Barcelona. España.
- KASHANI, A.B., SAMIE, H., EMERICK, R.J., CARLSON, C.W. 1986. Effect of copper with three levels of sulfur containing amino acids in diets for turkeys. *Poultry Science*. 65:1754-1759.
- KASSIN, H., SUWANPRADIT, S. 1996. The influence of copper on the total sulphur amino acids requeriment of broilers during two growing periods. *Asian-Australian Journal of Animal Science*. 4:359-362.
- KIRCHGESSNER, M., WINDISCH, W., ROTH, F.X. 1994. Zum effekt mikrobieller phytase auf die scheinbare verdaulichkeit von eisen, kupfer, zinc und mangan bei abgestufter p-versorgung von ferkeln. *Agribiol. Res*. 47: 156-159.
- KIRKPATRICK, D.C., COFFIN, D.E. 1975. Trace metal content of chicken eggs. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 26: 99-103.
- KLEVAY, L.M. 2000. Cardiovascular disease from copper deficiency – A History. *Journal of Nutrition*. 130: 489S-492S.
- KOH, T.S., PENG, R.K., KLASING, K.C. 1996. Dietary copper level affects copper metabolism during lipopolysaccharide-induced immunological stress in chicks. *Poultry Science*. 7:867-872.
- KONJUFCA, V.H., PESTI, G.M., BAKALLI, R.I. 1997. Modulation of cholesterol levels in broiler eat by dietary garlic and copper. *Poultry Science* 76:1264-1271.

- LEDOUX, D.R., HENRY, P.R., AMMERMAN, C.B., RAO, P.V., MILES, R.D. 1991. Estimation of the relative bioavailability of inorganic copper sources for chicks using tissue uptake of copper. *Journal of Animal Science*. 69: 215-222.
- LEE, D., SCHROEDER, JIII., GORDON, D.T. 1988. Enhancement of Cu bioavailability in the rat by phytic acid. *Journal of Nutrition*. 118: 712
- LINDER, M.C., HAZEGH-AZAM, M. 1996. Copper biochemistry and molecular biology. *American Journal of Clinical Nutrition*. 797S-811S
- LÖNNERDAL, B. 1996. Bioavailability of copper. *American Journal of Clinical Nutrition*. 821S-829S.
- LÖNNERDAL, B. 2008. Intestinal regulation of copper homeostasis: a development perspective. *American Journal of Clinical Nutrition*. 846S-850S.
- LUO X.G., DOVE, C.R. 1996. Effect of dietary copper and fat on nutrient utilization, digestive enzyme activities, and tissue mineral levels in weanling pigs. *Journal of Animal Science*. 74:1888-1896.
- LUO, X.G., JI, F., LIN, Y.X., STEWARD, F.A., LU, L., LIU, B., YU, S.X. 2005. Effects of dietary supplementation with copper sulfate or tribasic copper chloride on broiler performance, relative copper bioavailability, and oxidation stability of vitamin E in Feed. *Poultry Science*. 84: 888-893.
- MARTÍNEZ, M. 1996. Efecto de la avilamicina, avoparcina, y zinc bacitracina en el rendimiento productivo de pollos de carne. UNALM. Lima. Perú. 55 pp.
- MC DONALD, P., EDWARDS, RA., GREENHALGH J.F.D., MORGAN, C.A. 2006. *Nutrición Animal*. Editorial Acribia. 6ta Edición. Zaragoza. España.
- MCNAUGHTON, J. L., DAY, E. J. 1979. Effect of dietary Fe to Cu ratios on hematological and growth responses of broiler chickens. *Journal of Nutrition*. 109: 559-564.

- MEJIA, O.R., RUIZ, M., GRIMALDI, D.C., GARCIA, G.A., RUIZ, A.L., GARCIA, A., CASADIEGO, C.A. 2006. Bases biológicas y patobiológicas humanas del metabolismo del cobre. *Universitas Médica*. 1:55-72
- MILES, R.D., O'KEEFE, S.F., HENRY, P.R., AMMERMAN, C.B., LUO, X.G. 1998. The effect of dietary supplementation with copper sulfate or tribasic copper chloride on broiler performance, relative copper bioavailability, and dietary prooxidant activity. *Poultry Science*. 77:416-425.
- MIÑON, E., GONZALES, M.J., HUERTA, M., CRESPO, G., CARRILLO, S., CASTILLO, R.M., CUCA, J.M., MORALES, E. 2006. Niveles óptimos biológico y económico de cobre dietético en pollos de engorda. *Agrociencia*. 40:163-170.
- MONDAL, M.K., DAS, T.K., BISWAS, P., SAMANTHA, C.C., BAIRAGI, B. 2007. Influence of dietary inorganic and organic copper salt and level of soybean oil on plasma lipids, metabolites and mineral balance of broiler chicken. *Animal Feed Science and Technology*. 212-233.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL. 1994. *Nutrient Requirements of Poultry*. 9 ed. National Academy Press, Washington, DC.
- NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-117-SSA1-1994. BIENES Y SERVICIOS. 1994. Método de prueba para la determinación de cadmio, arsénico, plomo, estañó, cobre, fierro, zinc y mercurio en alimentos, agua potable y agua purificada por espectrometría de absorción atómica.
- O'DELL, B.L. 1983. Bioavailability of essential and toxic trace elements. *Federation Proceedings*. 1714-1715.
- PAIK, J.K., SEO, S.H., UM, J.S., CHANG, M.B., LEE, B.H. 1999. Effects of Supplementary Copper Chelate Level in Plasma and Breast Muscle of Broiler Chickens. *Asian-Australian Journal of Animal Science*. 5: 794-798.
- PANG, Y., PATTERSON, J.A., APPLGATE, T.J. 2009. The influence of copper concentration and source on ileal microbiota. *Poultry Science* 88: 586-592.

- PESTI, G., BAKALLI, R. 1998. Studies on the effect of feeding cupric sulfate pentahydrate to laying hens on egg cholesterol content. *Poultry Science*. 77: 1540-1545.
- PERCIVAL, S.S. 1998. Copper and immunity. *American Journal of Clinical Nutrition*. 1064S-1068S.
- POULSEN, H.D. 1998. Zinc and copper as feed additives, growth factors or unwanted environmental factors. *Journal of Animal Feed Science*. 7:135-142.
- PROHASKA, J.R., BROCCATE, B. 1999. Copper deficiency alters rat dopamine β -monooxygenase, mRNA and activity. *Journal of Nutrition*. 129: 2147-2153,
- PROHASKA, J.R., GYBINA, A.A. 2004. Intracellular copper transport in mammals. *American Journal of Clinical Nutrition*. 1003-1006.
- PROHASKA, J.R. 2008. Role of copper transporters in copper homeostasis. *American Journal of Clinical Nutrition*. 1:826S-829S.
- ROBBINS, K.R., BAKER, D.H. 1980. Effect of sulfur amino acid level and source on the performance of chicks fed high levels of copper. 59: 1246-1253.
- ROBERTS, E.A., SARKAR, B. 2008. Liver as a key organ in the supply, storage, and excretion of copper. *American Journal of Nutrition*, 88:851S-854S.
- ROMERO, C.A. 1998. Evaluación comparativa de la suplementación de flavosfolipol, olaquinox y zinc bacitracina en la alimentación de pollos de carne. UNALM. Lima. Perú. 74 pp.
- SAMANTHA, B., GROSH, P.R., BISWAS, A., DAS, S.K. 2011. The effects of copper supplementation on the performance and hematological parameters of broiler chickens. *Asian-Australian Journal of Animal Science*. 7: 1001-1006.
- SANGBAE, K., CHAO, P.I., ALLEN, K.G.D. 1992. Inhibition of elevated hepatic glutathione abolishes copper deficiency cholesterolemia. *The FASEB Journal*. 7: 2467-2471.

- SAS Institute. 1990. SAS@ User's Guide Statistic. Version 6.04 edition. SAS institute Inc., Cary, NC.
- SHAO, L., SERRANO, D., MAYER, L. 1999. The rol of epithelial cells in immune regulation in the gut. *Seminars in Immunology*. 13: 163-176.
- SHURSON, G.C., KU, P.K., WAXLER, G.L., YOKOYAMA, M.T., MILLER, E.R. 1990. Physiological relationships between microbiological status and dietary copper levels in the pig. *Journal of Animal Science*. 68:1061-1071.
- SKRIVAN, M., SEVCIKOVA, E., TUMOVA, E., SKRIVANOVA, V., MAROUNEK, M. 2002. Effect of copper sulphate supplementation on performance of broiler chickens, cholesterol content and fatty acid profile of meat. *Czech Journal of Animal Science*. 47: 275-280.
- SOLAIMAN, S.G., SHOEMAKER, C.E., JONES, W.R., KERTH, C.R. 2006. The effects of high levels of supplemental copper on the serum lipid profile, carcass traits, and carcass composition of goats kids. *Journal of Animal Science*. 84:171-177.
- SONG, Z., ZHU, L., ZHAO, T., JIAO, H., LIN, H. 2009. Effect of copper on plasma ceruloplasmin and antioxidant ability in broiler chickens challenged by lipopolysaccharide. *Asian-Australian Journal of Animal Science*. 10:1400-1406.
- TIZARD, I. 1998. *Inmunología Veterinaria*. McGraw-Hill, México. 592 pp.
- TURNLUND, J.R., JACOB, R.A., KEEN, C.I., STRAIN, J.J., DARSHAN, S.K., DOMEK, J.M., KEYES, W.R., ENSUNSA, J.L., LYKKESFELDT, J., COULTER, J. 2004. Long-term high copper intake: effects on indexes of copper status, antioxidant status, and immune function in young men. *American Society for Clinical Nutrition*. 79: 1037-1044.
- UNDERWOOD, E.J., SUTTLE, N.F. 2003. *Los Minerales en la Nutrición del Ganado*. 3era Edición. Editorial Acribia, S.A. Zaragoza. España.

- WALDROUP, P.W., OVIEDO-RONDON, E.O., FRITTS, C.A. 2003. Comparison of bio-mos and antibiotic feeding programs in broiler diets containing copper sulfate. *International Journal of Poultry Science*. 1:28-31.
- XIA, M.S., HU, C.H., XU, Z.R. 2004. Effects of copper-bearing montmorillonite on growth performance, digestive enzyme activities, and intestinal microflora and morphology of male broilers. *Poultry Science*. 83: 1868-1875.
- ZHOU, W., KORNEGAY, E.T., VAN LAAR, H., SWINKELS, J.W.G.M., WONG, E.A., LINDERMANN, M.D. 1994a. The role of feed consumption and feed efficiency in copper-stimulated growth. *Journal of Animal Science*. 72: 2385-2394.
- ZHOU, W., KORNEGAY, E.T., LINDERMANN, M.D., SWINKELS, J.W.G.M., WELTEN, M.K., WONG, E.A. 1994b. Stimulation of growth by intravenous injection of copper in weanling pigs. *Journal of Animal Science*. 72: 2395-2403.
- ZIA-UR-RAHMAN., BESBASI, F., AFAN, A.M., BENGALI, E.A., ZENDAH, M.I., HILMY, M., MUKHTAR, M.R., JASPAL, S.A., ASLAM, N. 2001. Effects of copper supplement on hematological profiles and broiler meat composition. *International Journal of Agriculture and Biology*. 2:203-205.

VIII ANEXOS

ANEXO I: Efecto de la fuente de cobre sobre el peso vivo de pollos (g) a la edad de 0, 7, 14, 21, 28, 35, y 40 días.

TRATAMIENTOS	DÍA 0	DÍA 7	DÍA 14	DÍA 21	DÍA 28	DÍA 35	DÍA 40
T1	51.43 ± 1.72 ^a	176.75 ± 8.83 ^a	483.73 ± 21.08 ^a	970.39 ± 32.03 ^{ab}	1616.39 ± 50.79 ^b	2288.87 ± 63.30 ^b	2783.17 ± 122.93 ^a
T2	50.03 ± 1.09 ^a	176.61 ± 8.89 ^a	479.96 ± 14.86 ^a	970.52 ± 13.37 ^{ab}	1617.65 ± 64.04 ^b	2311.28 ± 127.69 ^{ab}	2770.24 ± 157.86 ^a
T3	50.05 ± 0.92 ^a	171.25 ± 7.34 ^a	471.65 ± 5.63 ^a	949.20 ± 20.52 ^b	1592.40 ± 10.65 ^b	2312.84 ± 36.89 ^{ab}	2789.83 ± 32.89 ^a
T4	51.20 ± 0.29 ^a	178.45 ± 3.14 ^a	488.92 ± 6.06 ^a	1002.65 ± 15.11 ^a	1698.48 ± 24.90 ^a	2429.45 ± 20.52 ^a	2886.97 ± 85.90 ^a
T5	50.38 ± 1.02 ^a	178.85 ± 3.08 ^a	493.54 ± 14.89 ^a	991.34 ± 33.61 ^a	1651.71 ± 68.17 ^{ab}	2342.32 ± 108.15 ^{ab}	2799.06 ± 122.91 ^a

^{ab}: Valores con letras diferentes en la misma fila son significativamente diferentes ($p < 0.05$)

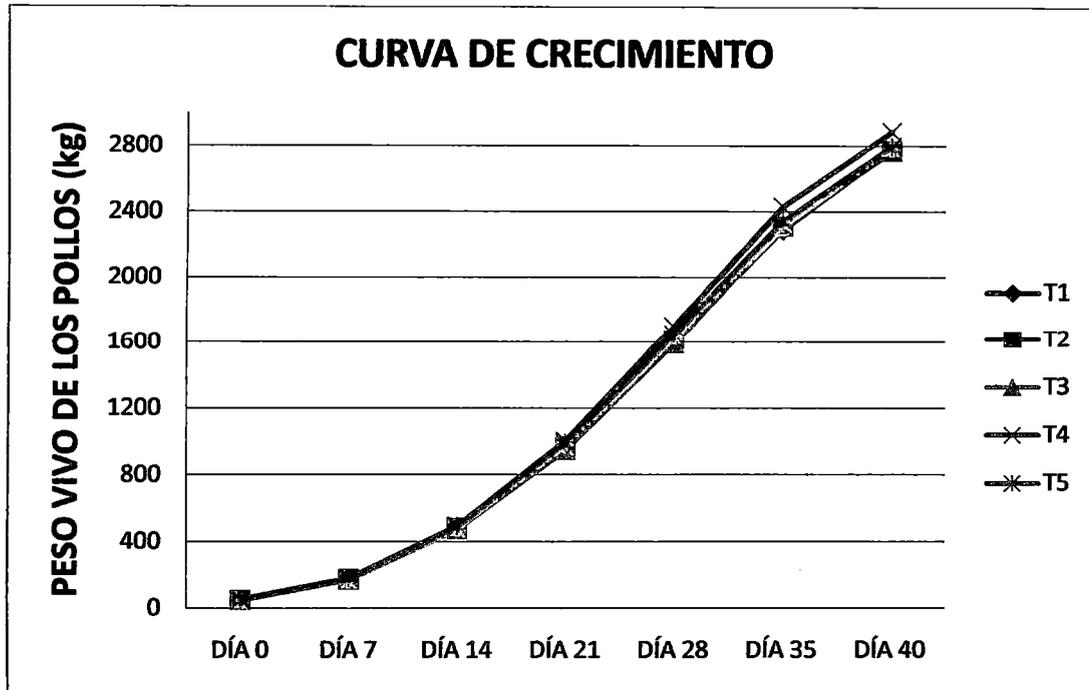
T1: Grupo control positivo (con antibiótico); T2: Grupo control negativo (sin antibiótico); T3: Sulfato de Cobre; T4: Oxidocloruro de Cobre; T5: Cobre Clorado Tribásico (CCTB).

ANEXO II: PESO DE LOS POLLOS A LA EDAD DE 0, 7, 14, 21, 28, 35 y 40 DÍAS DE EDAD (g).

	DÍA 0	DÍA 7	DÍA 14	DÍA 21	DÍA 28	DÍA 35	DÍA 40
	PESO	PESO	PESO	PESO	PESO	PESO	PESO
T1R1	51.20	176.20	494.70	1010.50	1666.50	2267.00	2780.56
T1R2	51.50	180.11	490.10	958.80	1638.11	2359.22	2928.14
T1R3	49.40	164.90	452.45	934.60	1547.50	2212.60	2627.80
T1R4	53.60	185.80	497.67	977.67	1613.44	2316.67	2796.17
T2R1	50.50	166.70	473.95	960.10	1564.60	2312.89	2820.78
T2R2	48.40	179.40	483.00	976.90	1703.56	2474.44	2951.00
T2R3	50.70	186.25	498.95	986.30	1629.20	2294.90	2734.50
T2R4	50.50	170.10	463.95	958.78	1573.22	2162.89	2574.67
T3R1	51.00	179.00	471.40	934.50	1582.11	2306.67	2817.11
T3R2	50.10	170.40	466.80	933.20	1602.80	2336.30	2807.22
T3R3	50.30	174.00	468.80	951.90	1600.30	2345.10	2792.00
T3R4	48.80	161.60	479.60	977.20	1584.40	2263.30	2743.00
T4R1	50.90	181.10	483.50	980.70	1668.30	2429.60	2863.70
T4R2	51.00	178.00	487.39	1010.78	1701.33	2429.67	2933.88
T4R3	51.50	174.20	487.20	1005.00	1695.30	2454.40	2972.90
T4R4	51.40	180.50	497.60	1014.13	1729.00	2404.14	2777.40
T5R1	50.70	177.45	494.35	1002.30	1648.80	2404.80	2915.40
T5R2	50.00	180.95	502.05	1015.00	1712.50	2416.80	2891.30
T5R3	49.20	175.20	472.33	941.56	1557.33	2183.67	2667.11
T5R4	51.60	181.80	505.45	1006.50	1688.20	2364.00	2722.44

ANEXO III:

CURVA DE CRECIMIENTO DE POLLOS



T1: Grupo control positivo (con antibiótico); T2: Grupo control negativo (sin antibiótico); T3: Sulfato de Cobre; T4: Oxidocloruro de Cobre; T5: Cobre Clorado Tribásico (CCTB).

ANEXO IV: Efecto de las fuentes de cobre sobre el consumo de alimento, rendimiento de carcasa y ganancia diaria de peso.

TRATAMIENTOS	CONSUMO ACUMULADO DE ALIMENTO (g)	RENDIMIENTO DE CARCASA %	GANANCIA DE PESO DIARIO (g)		
			0 - 21 Días	21 - 40 Días	0 - 40 Días
T1	4648.19 ± 193.99 ^a	72.47 ± 1.93 ^a	43.76 ± 1.49 ^{ab}	86.33 ± 5.54 ^a	68.29 ± 3.05 ^a
T2	4534.32 ± 342.76 ^a	72.61 ± 2.67 ^a	43.83 ± 0.65 ^{ab}	85.70 ± 7.30 ^a	68.00 ± 3.97 ^a
T3	4157.27 ± 96.35 ^b	74.91 ± 4.24 ^a	42.81 ± 1.02 ^b	87.65 ± 2.53 ^a	68.50 ± 0.80 ^a
T4	4509.34 ± 18.43 ^a	73.67 ± 3.85 ^a	45.31 ± 0.71 ^a	89.73 ± 4.18 ^a	70.90 ± 2.15 ^a
T5	4431.92 ± 154.88 ^{ab}	72.28 ± 2.43 ^a	44.81 ± 1.57 ^a	86.08 ± 4.84 ^a	68.72 ± 3.07 ^a

^{ab}: Valores con letras diferentes en la misma fila son significativamente diferentes (p < 0.05).

T1: Grupo control positivo (con antibiótico); T2: Grupo control negativo (sin antibiótico); T3: Sulfato de Cobre; T4: Oxidocloruro de Cobre; T5: Cobre Clorado Tribásico (CCTB).

ANEXO V: CONSUMO DE ALIMENTO SEMANAL (g).

	PRIMERA SEMANA	SEGUNDA SEMANA	TERCERA SEMANA	CUARTA SEMANA	QUINTA SEMANA	SEXTA SEMANA	TOTAL
T1R1	135.00	335.90	729.20	1067.25	1102.95	1181.06	4551.36
T1R2	138.10	281.10	688.60	1107.56	1266.33	1356.71	4838.40
T1R3	130.90	263.65	708.90	1034.00	1163.30	1123.30	4424.05
T1R4	142.30	310.89	696.00	1070.11	1229.83	1329.83	4778.97
T2R1	124.50	273.50	696.10	1030.25	1223.39	1178.94	4526.68
T2R2	141.40	283.50	707.60	1170.78	1321.33	1276.89	4901.50
T2R3	143.15	292.05	694.10	1014.70	1127.60	1359.50	4631.10
T2R4	133.40	276.50	737.33	1012.33	759.22	1159.22	4078.01
T3R1	142.20	274.80	675.50	992.89	1181.33	831.33	4098.06
T3R2	130.20	214.10	669.80	937.40	1181.10	962.33	4094.93
T3R3	135.00	300.30	684.50	1034.50	1176.20	968.40	4298.90
T3R4	135.60	235.60	718.10	1003.70	1029.60	1014.60	4137.20
T4R1	142.10	285.20	689.40	1049.50	1201.20	1161.20	4528.60
T4R2	138.25	288.83	720.44	1091.11	1172.11	1081.13	4353.63
T4R3	135.00	284.15	707.30	1047.50	1186.80	1146.80	4507.55
T4R4	144.10	297.90	851.63	1170.25	1180.14	-----	-----
T5R1	138.20	287.50	694.80	1047.95	950.30	1110.30	4229.05
T5R2	142.20	293.70	717.60	1025.80	1150.60	1110.60	4440.50
T5R3	144.20	283.89	675.33	994.00	1276.56	1232.11	4606.09
T5R4	146.30	299.40	702.35	1079.60	1048.40	1176.00	4452.05

ANEXO VI: RENDIMIENTO DE CARCASA (%)

	PESO VIVO (g)	CARCASA (g)	PORCENTAJE
T1R1	2705	1997	73.83
T1R1	3000	2127	70.90
T1R2	3043	2252	74.01
T1R2	3047	2209	72.50
T1R3	2702	1881	69.62
T1R3	2477	1751	70.69
T1R4	2832	2132	75.28
T1R4	2794	2038	72.94
T2R1	2805	2048	73.01
T2R1	3000	2117	70.57
T2R2	3083	2350	76.22
T2R2	2826	1977	69.96
T2R3	2740	2054	74.96
T2R3	2795	1939	69.37
T2R4	2325	1660	71.40
T2R4	2415	1821	75.40
T3R1	2714	2039	75.13
T3R1	2818	2108	74.80
T3R2	2848	2022	71.00
T3R2	3000	2156	71.87
T3R3	2865	2086	72.81
T3R3	2900	2106	72.62
T3R4	2968	2279	76.79
T3R4	3018	2544	84.29
T4R1	3077	2258	73.38
T4R1	2990	2204	73.71
T4R2	2828	2006	70.93
T4R2	3093	2331	75.36
T4R3	3064	2279	74.38
T4R3	2890	1921	66.47
T4R4	2695	2152	79.85
T4R4	2600	1958	75.31
T5R1	2990	2140	71.57
T5R1	3097	2061	66.55
T5R2	2883	2115	73.36
T5R2	3100	2291	73.90
T5R3	2870	2083	72.58
T5R3	2700	1978	73.26
T5R4	2975	2185	73.45
T5R4	2751	2024	73.57

ANEXO VII: GANANCIA DIARIA DE PESO (g).

	GANANCIA DIARIA		
	0-21 DÍAS	21-40 DIAS	0-40 DIAS
T1	45.68	84.29	68.23
T1	43.20	93.78	71.92
T1	42.15	80.63	64.46
T1	44.00	86.60	68.56
T2	43.31	88.60	69.26
T2	44.21	94.00	72.57
T2	44.55	83.25	67.10
T2	43.25	76.95	63.10
T3	42.07	89.65	69.15
T3	42.05	89.24	68.93
T3	42.93	87.62	68.54
T3	44.21	84.09	67.36
T4	44.28	89.67	70.32
T4	45.70	91.58	72.07
T4	45.40	93.71	73.04
T4	45.84	83.97	68.15
T5	45.31	91.10	71.62
T5	45.95	89.35	71.03
T5	42.49	82.17	65.45
T5	45.47	81.71	66.77

ANEXO VIII: Efecto de las fuentes de cobre sobre la conversión alimenticia de pollos en los períodos de 0-21 días, 0-28 días, 0-35 días y 0-40 días.

TRATAMIENTOS	0-21 días	0-28 días	0-35 días	0-40 días
T1	1.24 ± 0.013 ^a	1.41 ± 0.015 ^a	1.52 ± 0.008 ^a	1.70 ± 0.034 ^a
T2	1.22 ± 0.028 ^a	1.39 ± 0.025 ^a	1.45 ± 0.050 ^a	1.67 ± 0.050 ^{ab}
T3	1.20 ± 0.046 ^a	1.34 ± 0.057 ^a	1.42 ± 0.038 ^a	1.52 ± 0.042 ^c
T4	1.23 ± 0.076 ^a	1.37 ± 0.066 ^a	1.44 ± 0.060 ^a	1.57 ± 0.035 ^{bc}
T5	1.20 ± 0.025 ^a	1.36 ± 0.033 ^a	1.43 ± 0.108 ^a	1.62 ± 0.123 ^{abc}

^{ab}: Valores con letras diferentes en la misma fila son significativamente diferentes ($p < 0.05$).

Tratamiento 1: Grupo control positivo (con antibiótico); T2: Grupo control negativo (sin antibiótico); T3: Sulfato de Cobre; T4: Oxidocloruro de Cobre; T5: Cobre Clorado Tribásico (CCTB).

ANEXO IX:**CONVERSIÓN ALIMENTICIA**

	CONVERSION ALIMENTICIA			
	0-21	0-28	0-35	0-40
1	1.251	1.400	1.520	1.668
1	1.221	1.400	1.510	1.682
1	1.247	1.430	1.530	1.716
1	1.244	1.420	1.520	1.743
2	1.203	1.400	1.480	1.634
2	1.220	1.390	1.490	1.689
2	1.207	1.360	1.460	1.726
2	1.263	1.420	1.380	1.616
3	1.237	1.360	1.450	1.482
3	1.148	1.260	1.370	1.485
3	1.242	1.390	1.450	1.568
3	1.173	1.360	1.410	1.536
4	1.201	1.340	1.420	1.610
4	1.196	1.356	1.434	1.558
4	1.181	1.320	1.400	1.543
4	1.344	1.470	1.550	-----
5	1.177	1.360	1.320	1.476
5	1.195	1.310	1.410	1.563
5	1.237	1.390	1.580	1.759
5	1.202	1.360	1.420	1.667

ANEXO X:**CONCENTRACIÓN DE COBRE EN EL HÍGADO DE POLLOS
(ppm).**

T1R1-1	2.93
T1R1-2	2.86
T1R2-1	3.01
T1R2-2	4.05
T1R3-1	3.79
T1R3-2	4.19
T1R4-1	3.20
T1R4-2	5.93
T2R1-1	3.35
T2R1-2	2.96
T2R2-1	3.48
T2R2-2	3.33
T2R3-1	3.44
T2R3-2	3.20
T2R4-1	2.75
T2R4-2	4.18
T3R1-1	3.55
T3R1-2	3.12
T3R2-1	4.64
T3R2-2	3.69
T3R3-1	3.86
T3R3-2	3.58
T3R4-1	4.45
T3R4-2	3.17
T4R1-1	3.45
T4R1-2	3.45
T4R2-1	3.85
T4R2-2	3.56
T4R3-1	4.32
T4R4-2	3.74
T4-1	3.82
T5R1-1	4.42
T5R1-2	5.34
T5R2-1	5.82
T5R2-2	3.90
T5R3-1	4.66
T5R3-2	5.45
T5R4-1	4.43
T5R4-2	4.34

ANEXO XI: MEDIDAS DEL DUODENO CRANEAL (μm).

	VELLOSIDADES			CRIPTA	C. CALICIFORMES	LÁMINA PROPIA	RELACIÓN
	ALTURA	ANCHO	ÁREA				
T1DCR1-1	1298.3	217.2	28 212.8	213.3	83.00	5.60	6.09
T1DCR1-2	1206.9	184.3	22 865.7	172.9	102.29	5.06	6.98
T1DCR2-1	1225.0	235.0	29 061.7	171.1	68.39	5.81	7.16
T1DCR4-1	1372.7	201.3	27 846	137.3	97.47	5.72	10.00
T1DCR3-1	1455.8	172.5	15 243	203.3	92.58	5.23	7.16
T1DCR2-2	1083.3	161.3	17 628	173.3	54.33	6.08	6.25
T2DCR1-2	1509.3	212.0	23 975.5	240.7	91.33	6.57	6.27
T2DCR2-1	1556.0	138.0	16 320.0	213.3	106.47	3.93	7.29
T2DCR2-2	1256.9	184.6	22 766.2	144.6	59.62	4.90	8.69
T2DCR3-1	1572.2	195.0	30 383.9	203.9	103.56	6.69	7.71
T2DCR4-1	1410.8	230.0	33 930.8	151.7	113.33	6.25	9.30
T2DCR4-2	1236.7	126.0	15 638.7	160.0	66.70	3.38	7.73
T3DCR1-1	1458.7	210.0	30 629.3	165.3	73.60	6.48	8.82
T3DCR1-2	1430.0	158.2	22 625.9	125.9	83.32	3.75	11.36
T3DCR2-1	1261.1	154.4	19 066.7	160.0	63.78	4.69	7.88
T3DCR3-1	1214.0	190.7	17 408.0	173.3	58.00	4.70	7.01
T3DCR3-2	1720.5	190.5	32 683.0	174.5	90.25	4.85	9.86
T3DCR4-1	1474.0	214.7	31 531.3	137.3	81.33	5.97	10.74
T3DCR4-2	1324.0	222.7	29 775.3	174.7	89.60	6.65	7.58
T4DCR1-1	1210.0	178.8	21 535.6	165.0	71.00	4.34	7.33
T4DCR1-2	1235.3	197.3	25 168.0	198.0	80.93	6.05	6.24
T4DCR3-1	1601.7	189.2	31 965.8	195.8	71.08	4.94	8.18
T4DCR3-2	1258.1	165.0	20 487.5	171.3	79.00	5.81	7.34
T5DCR1-1	1141.3	150.0	16 788.8	185.0	28.50	4.09	6.17
T5DCR1-2	1125.7	211.4	24 042.1	191.4	156.79	4.53	5.88
T5DCR2-1	1268.3	245.0	31 097.5	171.7	73.83	6.10	7.39
T5DCR3-1	1265.6	181.9	22 925.6	181.3	69.94	4.86	6.98
T5DCR3-2	1551.8	253.6	21 911.0	158.2	96.55	6.23	9.81

ANEXO XII: MEDIDAS DEL DUODENO CAUDAL (μm).

NÚMERO	VELLOSIDADES			CRIPTA	C. CALICIFORMES	LÁMINA PROPIA	RELACIÓN
	ALTURA	ANCHO	ÁREA				
T1CAUR1-1	1256.4	152.7	19 157.3	207.3	64.32	4.06	6.06
T1CAUR1-2	1280.0	160.8	20 614.6	190.8	74.79	4.63	6.71
T1CAUR2-1	997.9	144.3	10 131.0	152.5	45.33	3.10	6.54
T1CAUR2-2	1052.5	151.3	16 296.3	195.6	80.69	3.89	5.38
T1CAUR3-1	1318.7	173.7	23 944.0	187.7	99.67	4.38	7.03
T1CAUR4-1	1418.0	194.0	27 531.0	188.0	86.90	4.93	7.54
T1CAUR3-2	1347.2	207.8	28 293.3	172.2	105.72	5.24	7.82
T1CAUR4-2	1434.0	170.0	23 924.0	158.0	99.00	5.03	9.08
T2CAUR1-1	1403.9	143.9	18 317.0	229.4	80.41	4.74	6.12
T2CAUR1-2	1487.1	212.9	32 272.9	164.3	92.29	4.18	9.05
T2CAUR2-1	1506.7	207.3	31 325.3	184.7	102.93	5.63	8.16
T2CAUR2-2	1168.7	190.0	22 450.7	148.0	72.47	4.98	7.90
T2CAUR3-2	1501.7	203.3	27 266.5	160.0	77.28	4.40	9.39
T2CAUR4-1	1213.3	170.0	20 602.0	170.7	72.20	4.82	7.11
T2CAUR4-2	1390.4	168.8	23 292.5	195.0	78.88	4.30	7.13
T3CAUR1-1	1278.0	204.0	19 868.0	129.3	65.27	1.76	9.88
T3CAUR1-2	1186.0	187.0	22 259.0	169.0	68.80	4.35	7.02
T3CAUR2-1	1211.1	127.8	15 770.0	177.8	76.00	4.03	6.81
T3CAUR2-2	1328.5	213.0	28 878.5	206.0	84.55	6.69	6.45
T3CAUR3-1	1281.3	175.3	17 120.5	170.7	79.93	6.18	7.51
T3CAUR3-2	1172.0	168.7	23 042.7	142.0	87.80	4.43	8.25
T3CAUR4-1	1290.0	158.9	20 522.2	220.0	96.11	5.86	5.86
T3CAUR4-1	1246.7	190.7	24 128.7	185.3	70.87	5.53	6.73
T4CAUR1-1	1074.0	138.7	15 028.0	216.7	59.53	3.87	4.96
T4CAUR1-2	1170.0	143.3	16 710.0	132.2	127.89	4.10	8.85
T4CAUR2-1	1437.3	166.0	23 756.0	202.7	74.40	5.25	7.09
T4CAUR2-2	1346.7	144.0	14 636.5	199.3	72.87	4.27	6.76
T4CAUR3-1	1327.7	137.7	18 411.8	180.9	96.77	4.15	7.34
T4CAUR3-2	1327.0	165.5	21 749.0	193.5	86.16	5.34	6.86
T4CAUR4-1	1204.1	137.1	16 601.8	147.6	62.35	1.69	8.16
T4CAUR4-2	1400.8	148.4	20 921.2	206.8	67.76	4.01	6.77
T5CAUR1-1	1409.6	143.8	20 332.9	172.1	128.92	4.00	8.19
T5CAUR1-2	1685.3	182.0	30 820.0	193.3	68.40	4.87	8.72
T5CAUR2-1	1389.5	222.9	31 061.4	198.6	165.62	6.56	7.00
T5CAUR2-2	1146.4	138.6	16 012.7	190.0	52.00	4.41	6.03
T5CAUR3-1	1379.8	203.3	28 287.3	130.0	113.67	4.80	10.61

NÚMERO	VELLOSIDADES			CRIPTA	C. CALICIFORMES	LAMINA PROPIA	RELACION
	ALTURA	ANCHO	ÁREA				
T5CAUR3-2	1735.6	194.4	34 444.4	191.9	75.81	5.55	9.04
T5CAUR4-1	1227.5	131.3	16 197.5	195.0	50.13	3.28	6.29
T5CAUR4-2	1068.3	131.7	14 391.7	159.2	48.92	3.79	6.71

ANEXO XIII: MEDIDAS DEL YEYUNO (μm).

	ALTURA	ANCHO	ÁREA	PROFUNDIDAD	CALICIFORMES	LÁMINA	RELACIÓN
T1YER2-1	1177.3	148.7	17 603.3	168.0	253.73	4.95	7.01
T1YER2-2	957.9	95.7	9 063.6	132.1	90.29	3.88	7.25
T1YER3-1	658.2	125.3	8 572.9	148.8	144.00	5.59	4.42
T1YER4-1	1014.4	130.0	13 266.1	133.9	119.61	5.08	7.58
T1YER4-2	1117.1	110.6	12 305.3	117.6	112.24	3.76	9.50
T2YER1-1	1133.9	142.8	16 408.3	141.7	128.06	4.88	8.00
T2YER1-2	1042.0	115.0	12 053.0	131.0	87.10	5.03	7.95
T2YER2-1	1115.0	135.3	15 169.7	140.0	161.80	4.13	7.96
T2YER2-2	1135.6	128.8	14 893.8	116.3	105.50	4.78	9.76
T2YER3-1	1069.3	127.9	13 937.9	96.4	179.36	3.95	11.09
T2YER3-2	984.3	100.7	10 077.9	112.9	73.00	3.41	8.72
T2YER4-1	930.0	128.7	12 247.7	143.7	95.07	5.18	6.47
T2YER4-2	1099.3	114.3	12 782.3	118.7	100.40	3.93	9.26
T3YER1-1	1351.0	139.7	18 766.0	155.7	149.63	5.67	8.68
T3YER1-2	1115.0	136.7	15 191.7	116.7	111.53	5.23	9.55
T3YER2-1	994.5	136.0	13 743.0	104.0	221.63	3.91	9.56
T3YER2-2	1185.3	108.7	12 918.0	129.7	145.63	4.09	9.14
T3YER3-1	1247.5	149.4	18 670.6	156.9	193.38	4.63	7.95
T3YER3-2	1200.5	203.8	24 417.1	171.9	291.38	6.05	6.98
TEYER4-1	1141.7	140.0	16 020.8	108.3	106.00	6.73	10.54
T3YER4-2	1152.9	168.6	19 895.0	110.0	158.07	5.98	10.48
T4YER1-1	1141.0	145.0	16 667.6	170.0	168.05	3.45	6.71
T4YER1-2	1201.4	112.1	13 472.9	144.3	119.71	4.82	8.33
T4YER2-1	1175.3	123.0	14 533.0	142.7	126.37	4.39	8.24
T4YER2-2	1422.7	189.1	27 401.8	216.4	140.55	4.27	6.57
T4Y3R3-1	1119.0	142.3	15 968.0	131.0	151.93	4.60	8.54
T4Y3R3-2	1274.0	146.7	18 596.7	129.0	186.03	4.38	9.88
T4YER4-1	987.0	158.0	15 617.0	132.0	172.30	4.95	7.48
T4YER4-2	1075.7	125.2	13 402.4	99.0	112.81	4.20	10.87
T5YER1-1	1005.6	125.0	12 584.4	67.2	88.06	3.69	14.96
T5YER1-2	1106.5	149.4	17 061.2	155.3	96.71	4.93	7.12
T5YER2-2	1236.0	129.3	16 101.3	145.0	113.13	4.68	8.52
T5YER3-1	1368.2	182.3	25 093.6	178.6	378.85	6.38	7.66
T5YER3-2	1285.0	191.3	24 752.5	156.3	121.63	5.72	8.22
T5YER4-1	1046.1	120.0	12 618.3	112.8	113.11	4.49	9.27
T5YER4-2	1165.7	144.0	16 850.7	158.0	162.00	4.67	7.38

CONVERSIÓN ALIMENTICIA

(0 -21 DÍAS)

Analysis of Variance Procedure

Dependent Variable: CON21

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	4	0.00452000	0.00113000	0.61	0.6587
Error	15	0.02757500	0.00183833		
Corrected Total	19	0.03209500			

R-Square	C.V.	Root MSE	CON21 Mean
0.140832	3.515850	0.042876	1.2195

Analysis of Variance Procedure

Duncan Grouping	Mean	N	TRAT
A	1.24075	4	1
A	1.22325	4	2
A	1.20275	4	5
A	1.20000	4	3
A	1.23000	4	4

**CONVERSIÓN ALIMENTICIA
0-40 DÍAS**

Analysis of Variance Procedure

Dependent Variable: CON40

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	4	0.08369079	0.02092270	4.53	0.0148
Error	14	0.06462500	0.00461607		
Corrected Total	18	0.14831579			

R-Square	C.V.	Root MSE	CON40 Mean
0.564274	4.199388	0.067942	1.617895

Analysis of Variance Procedure

Duncan Grouping	Mean	N	TRAT
A	1.70250	4	1
A			
B A	1.66750	4	2
B A			
B A C	1.61750	4	5
B C			
B C	1.57000	3	4
C			
C	1.52000	4	3

GANANCIA DIARIA

0-21 DÍAS

Analysis of Variance Procedure

Dependent Variable: GANAN3

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	4	15.16180000	3.79045000	2.86	0.0605
Error	15	19.88817500	1.32587833		
Corrected Total	19	35.04997500			

R-Square	C.V.	Root MSE	GANAN3 Mean
0.432577	2.610890	1.151468	44.10250

Analysis of Variance Procedure

Duncan Grouping	Mean	N	TRAT
A	45.3050	4	4
A			
A	44.8050	4	5
A			
B	43.8300	4	2
B			
B	43.7575	4	1
B			
B	42.8150	4	3

GANANCIA DIARIA

21-40 DÍAS

Analysis of Variance Procedure

Dependent Variable: GANAN0

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	4	43.31387000	10.82846750	0.41	0.7971
Error	15	394.01685000	26.26779000		
Corrected Total	19	437.33072000			

R-Square	C.V.	Root MSE	GANAN0 Mean
0.099041	5.884419	5.125211	87.09800

Analysis of Variance Procedure

Duncan Grouping	Mean	N	TRAT
A	89.733	4	4
A	87.650	4	3
A	86.325	4	1
A	86.083	4	5
A	85.700	4	2

COBRE EN HÍGADO

Analysis of Variance Procedure

Dependent Variable: HÍGADO

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	4	9.46328448	2.36582112	5.61	0.0014
Error	34	14.33122321	0.42150657		
Corrected Total	38	23.79450769			

R-Square	C.V.	Root MSE	HIGADO Mean
0.397709	16.73951	0.649235	3.878462

Analysis of Variance Procedure

Duncan Grouping	Mean	N	TRAT
A	4.7950	8	5
B	3.7575	8	3
B	3.7450	8	1
B	3.7414	7	4
B	3.3363	8	2

PESO AL DÍA 0

Analysis of Variance Procedure

Dependent Variable: PESO

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	4	6.89300000	1.72325000	1.41	0.2788
Error	15	18.35250000	1.22350000		
Corrected Total	19	25.24550000			

R-Square	C.V.	Root MSE	PESO Mean
0.273039	2.185359	1.106119	50.61500

Analysis of Variance Procedure

Duncan Grouping	Mean	N	TRAT
A	51.4250	4	1
A			
A	51.2000	4	4
A			
A	50.3750	4	5
A			
A	50.0500	4	3
A			
A	50.0250	4	2

PESO AL DÍA 21

Analysis of Variance Procedure

Dependent Variable: PESO

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	4	6888.062430	1722.015607	2.89	0.0589
Error	15	8949.562950	596.637530		
Corrected Total	19	15837.625380			

R-Square	C.V.	Root MSE	PESO Mean
0.434918	2.500577	24.42616	976.8210

Analysis of Variance Procedure

Duncan Grouping	Mean	N	TRAT
A	1002.65	4	4
A			
A	991.34	4	5
A			
B	970.52	4	2
B			
B	970.39	4	1
B			
B	949.20	4	3

PESO AL DÍA 28

Analysis of Variance Procedure

Dependent Variable: PESO

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	4	27083.23370	6770.80842	2.81	0.0637
Error	15	36183.55140	2412.23676		
Corrected Total	19	63266.78510			

R-Square	C.V.	Root MSE	PESO Mean
0.428080	3.003350	49.11453	1635.325

Analysis of Variance Procedure

Duncan Grouping	Mean	N	TRAT
A	1698.48	4	4
A			
B A	1651.71	4	5
B			
B	1617.65	4	2
B			
B	1616.39	4	1
B			
B	1592.40	4	3

PESO AL DÍA 35

Analysis of Variance Procedure

Dependent Variable: PESO

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	4	48548.35592	12137.08898	1.80	0.1822
Error	15	101366.44130	6757.76275		
Corrected Total	19	149914.79722			

R-Square	C.V.	Root MSE	PESO Mean
0.323840	3.517641	82.20561	2336.953

Duncan Grouping	Mean	N	TRAT
A	2429.45	4	4
A			
B A	2342.32	4	5
B A			
B A	2312.84	4	3
B A			
B A	2311.28	4	2
B A			
B	2288.87	4	1

PESO AL DÍA 40

Analysis of Variance Procedure

Dependent Variable: PESO40

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	4	34663.32298	8665.83074	0.68	0.6156
Error	15	190785.99070	12719.06605		
Corrected Total	19	225449.31368			

R-Square	C.V.	Root MSE	PESO40 Mean
0.153752	4.019412	112.7788	2805.854

Analysis of Variance Procedure

Duncan Grouping	Mean	N	TRAT
A	2886.97	4	4
A	2799.06	4	5
A	2789.83	4	3
A	2783.17	4	1
A	2770.24	4	2

CONSUMO AL DÍA 40

Dependent Variable: CONSUFIN

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	4	539974.2547	134993.5637	3.34	0.0406
Error	14	565865.9712	40418.9979		
Corrected Total	18	1105840.2259			

R-Square	C.V.	Root MSE	CONSUFIN Mean
0.488293	4.514396	201.0448	4453.415

Analysis of Variance Procedure

Duncan Grouping	Mean	N	TRAT
A	4648.2	4	1
A			
A	4534.3	4	2
A			
A	4509.3	3	4
A			
B A	4431.9	4	5
B			
B	4157.3	4	3

RENDIMIENTO DE CARCASA

Analysis of Variance Procedure

Dependent Variable: RENDIMIENTO DE CARCASA

Source	Sum of DF	Mean Squares	Square	F Value	Pr > F
Model	4	39.07985000	9.76996250	0.99	0.4273
Error	35	346.38895000	9.89682714		
Corrected Total	39	385.46880000			

R-Square	C.V.	Root MSE	RENDI Mean
0.101383	4.298295	3.145922	73.19000

Analysis of Variance Procedure

Duncan Grouping	Mean	N	TRAT
A	74.914	8	3
A	73.674	8	4
A	72.611	8	2
A	72.471	8	1
A	72.280	8	5

RETRIBUCIÓN ECONÓMICA

Dependent Variable: RETRIBUCIÓN

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	4	2.44148878	0.61037220	2.66	0.0770
Error	14	3.21396417	0.22956887		
Corrected Total	18	5.65545295			

R-Square	C.V.	Root MSE	RENDIM Mean
0.431705	6.295320	0.479133	7.610947

Analysis of Variance Procedure

Duncan Grouping	Mean	N	TRAT
A	7.9410	4	3
A	7.9167	3	4
A	7.5900	4	5
A	7.2978	4	2
A	7.1978	4	1

CONSUMO DIARIO

Analysis of Variance Procedure

Dependent Variable: CONDIA

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	4	337.5584570	84.3896143	3.34	0.0406
Error	14	353.6734167	25.2623869		
Corrected Total	18	691.2318737			

R-Square	C.V.	Root MSE	CONDIA Mean
0.488343	4.514446	5.026170	111.3353

Analysis of Variance Procedure

Duncan Grouping	Mean	N	TRAT
A	116.203	4	1
A			
A	113.360	4	2
A			
A	112.737	3	4
A			
B A	110.798	4	5
B			
B	103.930	4	3

ALTURA DE VELLOSIDADES EN DUODENO CRANEAL

Analysis of Variance Procedure

Dependent Variable: ALTURA

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	4	1278.188893	319.547223	1.25	0.3170
Error	23	5868.540250	255.153924		
Corrected Total	27	7146.729143			

R-Square	C.V.	Root MSE	ALTURA Mean
0.178849	11.85609	15.97354	134.7286

Analysis of Variance Procedure

Duncan Grouping	Mean	N	TRAT
A	1423.65	6	2
A			
A	1411.76	7	3
A			
A	1326.28	4	4
A			
A	1273.67	6	1
A			
A	1270.54	5	5

ALTURA DE VELLOSIDADES EN YEYUNO

Dependent Variable: ALTURA

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	4	1827.841757	456.960439	2.83	0.0414
Error	31	5008.202718	161.554926		
Corrected Total	35	6836.044475			

R-Square	C.V.	Root MSE	ALTURA Mean
0.267383	11.31719	12.71043	112.3108

Analysis of Variance Procedure

Duncan Grouping	Mean	N	TRAT
A	1174.51	8	4
A			
A	1173.55	8	3
A			
A	1173.30	7	5
A			
B A	1063.68	8	2
B			
B	984.98	5	1