

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA

LA MOLINA

ESCUELA DE POSGRADO

DOCTORADO EN NUTRICIÓN



**“MORFOMETRÍA ÓSEA E INTESTINAL, COLESTEROL
SANGUÍNEO Y SUS INTERRELACIONES EN BROILERS
ALIMENTADOS CON DIFERENTES NIVELES DE GOMA DE TARA
(*Caesalpinia spinosa*)”**

Presentada por:

OTTO ANGELO ZEA MENDOZA

**TESIS PARA OPTAR EL GRADO DE DOCTOR
DOCTORIS PHILOSOPHIAE EN NUTRICIÓN**

Lima - Perú

2020

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA
LA MOLINA**

**ESCUELA DE POSGRADO
DOCTORADO EN NUTRICIÓN**

**“MORFOMETRÍA ÓSEA E INTESTINAL, COLESTEROL
SANGUÍNEO Y SUS INTERRELACIONES EN BROILERS
ALIMENTADOS CON DIFERENTES NIVELES DE GOMA DE
TARA (*Caesalpinia spinosa*)”**

TESIS PARA OPTAR EL GRADO DE DOCTOR

Doctoris Philosophiae

Presentada por:

OTTO ANGELO ZEA MENDOZA

Sustentada y aprobada ante el siguiente jurado:

Dra. María Elena Villanueva Espinoza
PRESIDENTE

Ph.D. Carlos Vílchez Perales
ASESOR

Ph.D Víctor Guevara Carrasco
MIEMBRO

Ph.D. Maríano Echevarría Rojas
MIEMBRO

Ph.D César Miguel Gavidia Chucán
MIEMBRO EXTERNO

DEDICATORIA

A mi madre, Raquel Mendoza, la persona que más quise en la vida, y quien me enseñó el camino de rectitud, compromiso, paciencia y alegría por el que transité para obtener este logro.

A mi padre, Otto Esteban Zea Gamero, por enseñarme mediante nuestros viajes al norte de Puno, a enfrentar la vida sin miedo y de una forma abierta y sincera hacia los demás.

A mi esposa Verónica Valdivia y a mi aún pequeño hijo Alejandro Gael. Gracias Vero por tu cariño, comprensión y apoyo; por estar siempre a mi lado y brindarme la tranquilidad para acabar este proyecto.

A mi hermanos, Andrés y Janet, por la ayuda que siempre brindaron a mí y a mis padres.

A las personas que no tienen miedo de expresar sus opiniones libres, nacidas de la razón y el estudio y a aquellos que pesar de las adversidades buscan el bien común sin descuidar sus propios senderos.

AGRADECIMIENTOS

- Al Dr. Carlos Vílchez Perales, mi asesor de maestría y doctorado, por ayudarme a enfocar mis objetivos, esforzándose en buscar que sea un buen investigador, profesional y persona, de forma desinteresada. Por todos los buenos consejos y la amistad que me brindó durante tanto tiempo.
- A todos mis profesores de la maestría y del doctorado: Al Dr. Mariano Echevarría, al Dr. Víctor Guevara, a la Ing. Alejandrina Sotelo, a la Dra. María Elena Villanueva, al Ing. Víctor Vergara, al Ing. Víctor Hidalgo, al Ing. Pedro Ciriaco y al Ing. Marcial Cumpa por el esfuerzo y compromiso que tienen con la educación universitaria.
- Los buenos momentos entre amigos siempre deben ser recordados y agradecidos. A todos mis amigos de la Agraria; un grupo de jóvenes que me ayudaron a recordar el ímpetu y deseo por aprender y a compartir buenos momentos: Daniel Huaranga, Liliana Jiménez, Teresita Huapaya, Enrique Pérez, Iván Meza, Nataly Bernuy, Josselyn Serrano, Viviana Ortiz, Fulgencio Vilcanqui, Jhonatan Inca, Rony Riveros, Ruben Céspedes, Erick Villegas, entre otros.
- A mis amigos de la universidad: Eben Salinas, Gonzalo Vallenas, Manuel Sánchez.

ÍNDICE GENERAL

	Pag.
RESUMEN.	
ABSTRACT	
I INTRODUCCIÓN.	1
II REVISIÓN DE LITERATURA.	3
2.1 Definición y tipos de fibra.	3
2.2 Fibras en alimentación de aves	6
2.3 Gomas o galactomananos	7
2.3.1 Goma de tara	8
2.4 Mineralización ósea	9
2.5 Morfometría de la tibia.	10
2.6. Desarrollo y morfometría del intestino delgado en pollos.	12
2.7 Prebióticos y sus efectos en salud intestinal	14
2.7.1. Definición y generalidades	14
2.7.2 Microbioma del intestino	14
2.7.3 Principales prebióticos usados en avicultura	16
2.7.4 Gomas utilizadas como prebióticos	16
2.8 Prebióticos en mineralización ósea	20
2.8.1 Mecanismos de acción de los prebióticos sobre la absorción de calcio.	21
2.8.2 Efectos de los prebióticos en mineralización ósea de aves.	25

2.9	Relación entre las medidas morfométricas del hueso con la morfometría intestinal, el peso corporal y órganos del TGI.	27
2.9.1	Interacciones entre la morfometría intestinal, contenido mineral y morfométrico del hueso.	27
2.9.2	Interacciones entre el peso del páncreas con el contenido mineral y morfométrico del hueso.	28
III	MATERIALES Y MÉTODOS.	30
3.1	Lugar de ejecución.	30
3.2	Animales experimentales.	30
3.3	Características físico químicas de la goma de tara.	30
3.4	Tratamientos.	31
3.5	Mediciones de Parámetros Productivos	33
3.6	Metodología para la preparación de los tejidos histológicos	33
3.6.1	Indicadores de morfometría intestinal	35
3.7	Metodología para la obtención de huesos y órganos	36
3.7.1	Indicadores de morfometría ósea	37
3.8	Metodología para la determinación de colesterol y glucosa.	40
3.9	Metodología para establecer las relaciones entre variables morfométricas del intestino y las medidas morfométricas del hueso.	41
3.10	Análisis estadístico.	41
IV	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.	42
V	CONCLUSIONES.	64

VI	RECOMENDACIONES.	65
VII	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.	66
VIII	ANEXOS.	85

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro		Pag.
Cuadro 1.	Composición, valores nutricionales calculados y nutrientes de las dietas.	32
Cuadro 2:	Comportamiento productivo de pollos de carne alimentados con dietas con diferentes niveles de goma de tara (Período de 1 a 21 días de edad).	43
Cuadro 3:	Efecto del nivel de la goma de tara sobre el peso vivo de pollos a los 7, 14 y 21 días de edad.	44
Cuadro 4:	Efecto de diferentes niveles de goma de tara sobre el peso del páncreas, peso del ciego, peso y largo del intestino, niveles de glucosa y colesterol. (Período de 1 a 21 días de edad).	46
Cuadro 5.	Características morfométricas de las tibias y respuestas del grado de mineralización de pollos de carne de 21 días de edad alimentados con distintos niveles de goma de tara.	48
Cuadro 6:	Efecto del nivel de goma de tara sobre la altura, ancho, área de vellosidad, profundidad de cripta, número de células caliciformes y relación altura con profundidad de cripta de las vellosidades intestinales del yeyuno.	51
Cuadro 7:	Coefficientes de correlación de las medidas morfométricas del hueso, de las vellosidades intestinales y el peso vivo en pollos a los 21 días de edad.	54
Cuadro 8:	Coefficientes de correlación de las medidas morfométricas del hueso con el peso de vísceras y el peso vivo del pollo a los 21 días de edad.	56
Cuadro 9:	Coefficientes de correlación del peso vivo, medidas morfométricas del hueso, porcentaje de ceniza, resistencia a la fractura, peso del páncreas, niveles de glucosa y colesterol.	59
Cuadro 10:	Efecto de diferentes niveles de goma de tara sobre el porcentaje de cenizas y la resistencia de la tibia (período de 1 a 21 días de edad).	62

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO	Pag.
I. Parámetros productivos de los pollos a los 21 días de edad.	86
II. Medidas morfométricas promedio (n=5) de las vellosidades intestinales del yeyuno	87
III. Peso y volumen de la tibia.	88
IV. Largo de la tibia.	89
V. Diámetro interno, diámetro externo y ancho de la tibia	90
VI. Índice de Quetelet	91
VII. Índice de Seedor.	92
VIII. Índice de Robusticidad.	93
IX. Peso vivo, peso del páncreas, peso del ciego, peso del hueso y peso y largo del intestino delgado	94
X: Peso, largo, diámetro interno y externo, ancho del hueso y peso del páncreas	98
XI: Peso vivo, morfometría ósea, peso del páncreas, niveles de glucosa y colesterol	102
XII: Porcentaje de cenizas.	104
XIII: Resistencia de los huesos.	108

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

AGCC	Ácidos grasos de cadena corta
AGCM	Ácidos grasos de cadena media
AGV	Ácidos grasos volátiles
CMH	Contenido mineral del hueso
DMH	Densidad mineral del hueso
DT	Discondroplasia de la tibia
FOS	Fructo oligosacáridos
GGPH	Goma de Guar en forma parcialmente hidrolizada
GOS	Galactooligosacaridos
GP	Grado de polimerización
HCl	Ácido clorhidrico
IL	Interleucina
LPS	Lipopolisacaridos
OC	Osteocalcina
ONDs	Oligosacáridos no digeribles
TGI	Tracto gastrointestinal
TLAI	Tejido linfoide asociado al intestino
TNFα	Factor de necrosis tumoral

RESUMEN

El objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto de la suplementación de diferentes niveles de goma de tara sobre el comportamiento productivo, la mineralización ósea, la morfometría intestinal, niveles de glucosa y colesterol y establecer relaciones entre estas variables en pollos de 1 a 21 días de edad. Para tal efecto, se emplearon 200 pollos BB machos de la Línea Cobb500, distribuidos en cinco tratamientos con cuatro repeticiones y 10 animales por repetición. Cada grupo recibió uno de los siguientes tratamientos: T1, dieta control (sin goma de tara); T2, dieta con 0.05%; T3, dieta con 0.10%; T4, dieta con 0.15%; T5, dieta con 0.20%. Todas las dietas fueron formuladas de acuerdo a las recomendaciones de la línea Cobb500. El alimento, en forma de harina y el agua fueron ofrecidos *ad libitum*. Semanalmente se registraron el peso vivo, la ganancia de peso diario, el consumo de alimento, la conversión alimenticia y la mortalidad. A los 21 días se sacrificaron 5 animales por unidad experimental para recolectar muestras histológicas de yeyuno, el hueso de la tibia y el peso de los órganos del sistema digestivo. Los datos fueron analizados bajo el Diseño Completamente Aleatorizado usando el procedimiento ANOVA y la prueba de Duncan para comparación de medias, así como la Correlación de Pearson para establecer relaciones entre variables estudiadas. Los resultados mostraron que el peso vivo y la ganancia de peso fueron superiores ($p < 0.05$) en aves que recibieron el T3 en comparación a las que recibieron T4 y T5, siendo similares al resto de tratamientos. Con relación a la morfometría intestinal, aves que recibieron el T3 tuvieron menor profundidad de cripta ($p < 0.05$) en relación a T1 y T2 siendo similar a T4 y T5. De igual manera T3 tuvo una mayor relación altura de vellosidad y cripta ($p < 0.05$) comparado a T1, siendo similar al resto de tratamientos. De todas las relaciones evaluadas, las que mayor grado de asociación mostraron fueron el peso vivo con el peso del hueso, peso del páncreas y profundidad de cripta (0.65, 0.57, y 0.23, respectivamente); la profundidad de cripta con el peso y largo del hueso (0.40 y 0.36, respectivamente); y el peso del páncreas con el peso, largo y resistencia a la fractura del hueso (0.57, 0.46, 0.49; respectivamente). No se encontraron diferencias estadísticas ($P > 0.05$) en indicadores de mineralización ósea, niveles de colesterol y glucosa. En conclusión, la adición de 0.10 % de goma de tara resulta en una mayor respuesta productiva, mejor morfometría intestinal y correlaciones positivas, altas y regulares entre la morfometría intestinal, morfometría ósea y el peso del páncreas.

Palabras clave: prebiótico, goma de tara, morfometría ósea, morfometría intestinal, relación

ABSTRACT

The aim of this study was to determine the effect of different levels of tara gum on the productive behavior, bone mineralization, gut morphology and glucose and cholesterol levels and establish relationships between these variables in broilers from 1 to 21 days. For this purpose, two hundred one day-old Cobb 500 were distributed in five treatments with four repetitions and 10 animals per repetition. Each group received one of the following treatments: T1, control diet (without tara gum); T2, diet with 0.05%; T3, diet with 0.10%; T4, diet with 0.15%, T5, diet with 0.20%. All diets were formulated according Cobb500 line recommendations. Food, in the form of flour and water, was delivered *ad libitum*. Live weight, daily weight gain, feed intake, feed conversion and mortality were recorded weekly. At 21 days, 5 animals were sacrificed per experimental unit to collect histological samples of the jejunum, tibia bone and the weight of the organs of the digestive system. Data were analyzed under the Completely Randomized Design using the ANOVA procedure and Duncan's test for comparison of means, as well as Pearson's Correlation to establish relationships between variables studied. The results showed that live weight and weight gain were higher ($p < 0.05$) in birds that received T3 compared to those that received T4 and T5, being similar to the rest of the treatments. With regards to intestinal morphometry, birds that received T3 had a lower crypt depth ($p < 0.05$) in relation to T1 and T2, being similar to T4 and T5. In the same way T3 had a higher ratio of villus height and crypt depth ($p < 0.05$) compared to T1, being similar to the rest of the treatments. In regards of every relationship evaluated, the ones that showed highest association degree were live weight with bone weight, pancreas weight and crypt depth (0.65, 0.57, and 0.23, respectively); crypt depth with bone weight and bone length (0.40 and 0.36, respectively); and the pancreas weight with the bone weight, bone length and bone resistance to fracture (0.57, 0.46, 0.49; respectively). No statistical differences were found in indicators of bone mineralization, cholesterol and glucose. In conclusion, the addition of 0.10 % tara gum resulted in a higher productive response, better intestinal morphometry and positive, high and regular correlations between intestinal morphometry, bone morphometry and the pancreas weight.

Keywords: prebiotic, tara gum, bone morphometry, gut morphometry, relationship

I INTRODUCCIÓN

En el aparato digestivo de los animales existe una interacción entre los componentes estructurales y microorganismos vivos que lo conforman. La morfometría intestinal constituida por la mucosa y las capas musculares interactúan con la microbiota intestinal y el sistema inmunológico. Al respecto, la microbiota del intestino y del ciego juegan un rol importante en procesos fisiológicos: metabolismo de energía, suplementación de nutrientes, respuestas inmunes e inflamatorias. Lograr que el tracto gastrointestinal presente mayor cantidad de microorganismos benéficos con la finalidad de reducir la presencia de bacterias dañinas es una estrategia aceptada para mejorar la salud del intestino en aves o humanos.

Por otro lado, la microbiota del intestino de las aves puede ser regulada mediante aditivos en la dieta: antibióticos, prebióticos, probióticos o ácidos orgánicos. El uso de antibióticos para regular la microbiota del intestino viene siendo prohibido por la resistencia que puede generar en humanos. Al respecto, los prebióticos pueden reemplazar a los antibióticos, siendo ingredientes con alto contenido de fibra que pueden ser usados como aditivos debido a sus características de fermentación y escasa digestibilidad, promoviendo el crecimiento de microorganismos benéficos en el ciego e intestino, y regulando la actividad del microbiota intestinal.

Además de los efectos beneficiosos de los prebióticos sobre el control de la microbiota intestinal, en los últimos años ha venido cobrando interés su efecto sobre la mineralización de los huesos relacionada a calcio mediante dos mecanismos que implican una mejor absorción de calcio mediante un incremento en la solubilización del calcio en el ciego y a través de la disminución en los procesos inflamatorios del intestino debido al incremento de la microbiota benéfica, que evita la activación de osteoclastos por citosinas inflamatorias (IL-1, IL-2 y TNF- α) las que generarían un incremento en la reabsorción ósea con la consiguiente disminución de la mineralización de los huesos.

La goma de tara (*Caesalpinia spinosa*) es un prebiótico en base a fibra soluble de tipo β -galactomananos con una tasa manosa galactosa de 3:1 es diferente a otros tipos de fibras solubles como la goma de guar (2:1) y goma de algarroba (4 - 4.5:1). A pesar de lo indicado, aún no se han realizado estudios con goma de tara, usada como fuente de fibra soluble, relacionados a su efecto en parámetros productivos, mineralización ósea y morfometría intestinal, niveles de colesterol y glucosa en pollos de carne ni tampoco se ha determinado el nivel óptimo de inclusión en pollos de carne que tenga un efecto benéfico sobre la salud intestinal y la morfometría de la tibia

Por otro lado, algunos estudios experimentales donde se usan prebióticos en animales de laboratorio vienen siendo complementados con estudios observacionales de asociación con la finalidad de estudiar relaciones existentes entre órganos del TGI (tracto gastrointestinal) como el intestino y órganos del tejido óseo. No obstante, aún no se han relacionado estas variables con el páncreas, niveles de colesterol o glucosa. Estas asociaciones encontradas de forma observacional en otras especies ameritan ser encontradas en pollos para ser usadas en estudios experimentales que comprueben su importancia en esta especie y a la vez relacionarlas con posteriores estudios en enfermedades metabólicas en humanos, usando al pollo como animal modelo.

Por lo tanto, el objetivo del presente estudio es evaluar el efecto de la goma de tara sobre la salud intestinal, mineralización ósea, niveles de colesterol y glucosa; así como establecer la relación entre morfometría ósea e intestinal, peso de órganos del TGI y niveles de colesterol y glucosa en pollos broilers.

II REVISIÓN DE LA LITERATURA

2.1 DEFINICIÓN Y TIPOS DE FIBRA

La Asociación Americana de Químicos de Cereales define a la fibra como: ‘La parte comestible de las plantas o carbohidratos análogos que es resistente a la digestión y absorción en el intestino delgado humano con fermentación completa o parcial en el intestino grueso (Anónimo 2001). De esta forma, la fibra de la dieta es parte del material de la planta que es resistente a la digestión enzimática. Esta incluye celulosa, polisacáridos sin celulosa tales como hemicelulosa, sustancias pécticas, gomas, mucílagos y componentes que no son carbohidratos como lignina (Dhingra *et al.* 2012). De acuerdo a Ha *et al.* (2000) se define como fibra a cualquier componente que alcanza el colon sin ser absorbido en el intestino humano saludable. Esta definición incluye sustancias diferentes a la pared celular de las plantas; por tanto, no restringe la fibra de la dieta a carbohidratos.

La clasificación más aceptada para la fibra de la dieta ha sido hecha mediante la diferenciación de los componentes de la fibra de la dieta de acuerdo a su solubilidad en buffer a un pH definido o a su capacidad de fermentar en un sistema *in vitro* usando una solución acuosa que representa enzimas de humanos. No obstante, Tungland y Meyer (2002) sugirieron varios sistemas de clasificación para diferenciar los componentes de la fibra de la dieta: basados en su rol en la planta, en el tipo de polisacáridos, en su solubilidad gastrointestinal simulada, en el sitio de digestión o en sus productos de digestión.

De forma más apropiada la fibra se clasifica en dos categorías: fibra insoluble en agua/escasamente fermentable como la celulosa, hemicelulosa, lignina y la fibra soluble en agua/de buena fermentación tales como la pectina, las gomas y los mucílagos (Dhingra *et al.* 2012). Las fibras solubles en contacto con el agua forman un retículo donde queda atrapada, originándose soluciones de gran viscosidad. Las fibras insolubles o poco solubles son capaces de retener el agua en su matriz estructural formando mezclas de baja viscosidad; esto produce un aumento de la masa fecal que acelera el tránsito intestinal (Anita y Abraham

1997). Otra característica de las fibras, es que todos los tipos de fibra, a excepción de la lignina, pueden ser fermentadas por las bacterias intestinales, aunque en general las solubles están presentes en mayor cantidad que las insolubles

Algunos ejemplos de fibras solubles son las siguientes:

- Pectina. Las sustancias pécticas son un grupo complejo de polisacáridos en los cuales el ácido D-galacturónico es su principal constituyente. Estos son componentes estructurales de paredes celulares de las plantas y también actúan como sustancias intercelulares de estabilidad. La pectina es altamente soluble en agua y es casi completamente metabolizada por las bacterias del colon. Debido a su conducta gelatinizante, estos polisacáridos solubles pueden disminuir la tasa de vaciamiento gástrico e influenciar el tránsito del intestino delgado. Esto explica sus propiedades hipoglicémicas (Jenkins *et al.* 1978).
- Gomas y mucílagos. Estas son tipo de fibras de plantas que no son componentes de la pared celular pero que están formados en células secretoras especializadas de las plantas. Estos son polisacáridos altamente ramificados que forman geles, se unen a agua y otros materiales orgánicos. Las gomas son exudaciones pegajosas formadas en respuesta a traumas. Las principales son la goma de guar y la goma arábiga. Los mucílagos se secretan en el endospermo de las semillas de las plantas, donde actúan para prevenir la deshidratación excesiva (Takahashi *et al.* 1994; Dhingra *et al.* 2012).

Algunos ejemplos de fibras insolubles son las siguientes:

- La lignina es un polímero complejo que contiene cerca de 40 unidades fenilpropano oxigenadas y alcoholes que han experimentado una polimerización compleja. La lignina varía en peso molecular y contenido de grupos metoxilos. La lignina es inerte debido a su fuerte unión intramolecular la cual incluye uniones carbón con carbón (Dhingra *et al.* 2012).
- La celulosa. Es el principal componente de la pared celular, una cadena lineal no ramificada compuesta de varias unidades de glucosa con uniones β -1,4 glucosídicos. La fuerza mecánica de la celulosa, la resistencia a la degradación biológica, la baja

solubilidad acuosa y la resistencia a la hidrólisis ácida son el resultado de la unión de hidrógenos con microfibrillas.

- La hemicelulosa. Se trata de polisacáridos de la pared celular que solubilizan en álcali acuoso después de la eliminación de agua soluble y polisacáridos pécticos. Contienen una columna vertebral de unidades glucosa con enlaces glucosídicos β -1, 4, pero difieren de celulosa en que son de menor tamaño, contienen variedad de azúcares y generalmente están ramificados (Kay 1982). Contienen principalmente xilosa y algo de galactosa, manosa, arabinosa y otros azúcares (Anita y Abraham 1997).

La fibra presenta muchas funciones diferentes y actividades en su paso a través del tracto gastrointestinal (TGI) (Dhingra *et al.* 2012). Muchas de esas funciones y actividades dependen de sus características físico-químicas.

- Tamaño de partícula y volumen.
- Características de superficie de área.
- Propiedades de hidratación.
- Solubilidad y viscosidad
- Adsorción unión de iones y moléculas orgánicas.

La solubilidad es una de las características más importantes de la fibra. Está bien establecido que los polisacáridos viscosos solubles pueden impedir la digestión y absorción de nutrientes en el intestino. Si la estructura del polisacárido es de tal forma, en que existe unión de las moléculas en un arreglo cristalino, es probable que el polímero sea energéticamente más estable en su estado sólido que en una solución (Guillón y Champ 2000). Por otro lado, una mayor ramificación (como en la goma de acacia) y la presencia de grupos iónicos (pectina) incrementan la solubilidad. Las alteraciones de las unidades de monosacáridos o su forma molecular (forma α o β) aumentan aún más la solubilidad (por ejemplo, goma arábica, arabinogalactano y goma xantana).

2.2 FIBRA EN ALIMENTACIÓN DE AVES

En avicultura, la fibra de la dieta ha sido considerada como un diluyente con aspectos negativos en la relación a la ingesta voluntaria y digestibilidad de nutrientes. Las dietas comerciales, especialmente aquellas destinadas a pollos jóvenes han sido formuladas para que contengan menos de 3% de fibra cruda (Mateos *et al.* 2012).

No obstante, se ha demostrado en los últimos años que la inclusión de moderadas cantidades de diferentes fuentes de fibra mejora el desarrollo de los órganos digestivos e incrementa la secreción del ácido clorhídrico, ácidos biliares y enzimas. Estos cambios pueden provocar mejoras en la digestibilidad de nutrientes, performance de crecimiento, en la salud del tracto gastrointestinal y eventualmente en el bienestar animal (Mateos *et al.* 2012). Por otro lado, el perfil del microbioma existente en la parte distal del tracto gastrointestinal puede verse modificado de acuerdo a la cantidad y tipo de fibra de la dieta, así como también de la composición de la dieta basal (Badia *et al.* 2012; Mateos *et al.* 2012).

La fibra de la dieta ha sido descrita como el remanente estructural de las células de las plantas que no son digeridas por animales monogástricos (Michard 2011). Las diferencias en la estructura y propiedades de las fuentes de fibra existente afectan la tasa de pasaje de diferentes maneras, alterando además el pH de la digesta y la producción de ácidos grasos volátiles en diferentes segmentos del tracto gastrointestinal (Mateos *et al.* 2012). Los efectos de la fibra de la dieta sobre la ingesta voluntaria, el tamaño de órganos, la motilidad del tracto gastrointestinal, la producción de enzimas, el crecimiento de la microbiota y el comportamiento de las aves varían de acuerdo al tipo de fibra (Mateos *et al.* 2012; Biggs *et al.* 2007). Además, los efectos de la fibra de la dieta sobre la fisiología y productividad dependen de los niveles de inclusión y la fuente de fibra (Biggs *et al.* 2007; Mateos *et al.* 2012).

Una de las principales ventajas de la inclusión de la fibra de la dieta es su efecto positivo sobre el desarrollo de la molleja. La molleja regula muchos aspectos fisiológicos como son la reducción del tamaño de partícula, la regulación de la motilidad y el control del flujo de alimento y reflujo gastroduodenal, mejora la secreción de enzimas digestivas, incluyendo HCl, ácidos biliares, enzimas endógenas y la sincronización de la digestión y el proceso de

absorción. Todas estas actividades afectan la funcionalidad del tracto gastrointestinal y pueden modificar el crecimiento microbiano en diferentes sitios específicos de los órganos (Mateos *et al.* 2012).

2.3 GOMAS O GALACTOMANANOS

Son un tipo de fibra soluble en base a polisacáridos que se encuentran en la naturaleza, compuestos de un esqueleto lineal de unidades de manosa unidos por enlaces β -1,4 y de unidades de galactosa con enlaces α -1,6 aleatoriamente reunidas como cadenas laterales (Brufau *et al.* 2015; Cheng y Prund'homme 2000). Las gomas están conformadas principalmente de betagalactomananos. Existen dos importantes grupos de galactomananos: a) aquellos derivados del endospermo de legumbres; b) aquellos producidos por ciertos microorganismos y bacterias (Mathur 2012). Los galactomananos de origen bacteriano presentan mayor variedad y complejas estructuras químicas que los galactomananos de las semillas, pero no tienen aplicaciones comerciales a diferencia de aquellos provenientes de legumbres (Cheng y Prund'homme 2000).

Un polisacárido se clasifica como una goma, o un hidrocoloide, cuando es dispersable en agua para formar una pasta mucilaginosa, un sólido coloidal o un gel. De acuerdo con esto, el almidón, pero no la celulosa, cae en la categoría de las gomas. La celulosa insoluble, que no es un hidrocoloide, puede convertirse en sus derivados dispersables en agua, por ejemplo, carboximetilcelulosa (CMC) y metilcelulosa, que son gomas (Mathur 2012).

Cada una de estas gomas, compuestas principalmente por galactomananos tienen algunas propiedades específicas, que están determinadas por el peso molecular, por la relación de manosa y galactosa (Man/Gal or M:G) y por el modo de colocación de injertos de galactosa simples sobre la cadena polimérica lineal de mananos de la molécula. Por lo tanto, un galactomanano no siempre puede ser reemplazado por otro en una aplicación específica. Esta es la razón por la que los galactomananos procedentes de diversas fuentes vegetales, tienen que ser investigados previamente a ser usados para la producción comercial, a pesar de su disponibilidad variable y diferencias de precio (Mathur 2012). Así por ejemplo, la goma de guar tiene una relación de unidades de manosa a galactosa de 1.6:1 a 1.8:1 (Cheng y

Prud'homme 2000), mientras que la tasa de manosa a galactosa es de 3:1 para la goma de tara. Otras gomas como la de algarrobo tienen una relación 4:1 (Wu *et al.* 2015; Mathur 2012).

2.3.1 Goma de tara

La goma de tara también denominada algarrobo peruano, es un tipo de polvo de color blanco o beige, obtenido a través de la molienda del endospermo de la semilla del árbol de la *Caesalpinia spinosa*, el cual es un árbol nativo del Perú (Wu *et al.* 2015). El arbusto de tara también se puede encontrar creciendo, pero en menor medida, a lo largo de las partes norte, oeste y sur de América del Sur (Venezuela hasta Argentina). Se ha introducido en las partes semiáridas de Asia, Oriente Medio y África, habiéndose cultivado en buena parte en las provincias de Yunnan y Sichuan de la China. También se ha naturalizado en el estado de California en América del Norte. El arbusto de tara se ha cultivado principalmente como una fuente de taninos, utilizados para la industria del cuero especial (Mathur 2012; Mortensen *et al.* 2017).

La goma de tara se produce en menor cantidad (1000 toneladas/año) en comparación con las otros dos principales gomas (goma de guar ~ 100.000 y goma de algarrobo ~ 20.000 toneladas al año) y por ello hasta ahora la goma tara no ha encontrado su nicho en el mundo de los hidrocoloides comerciales. Sin embargo, existe la posibilidad de que su mezcla con otras gomas, como el xantano pueda abrir nuevas perspectivas para su uso en los alimentos (Mathur 2012; Wu *et al.* 2015). El principal componente (~80%) del polvo de endospermo de la semilla de tara es un polímero de galactomanano consistente de una cadena lineal de unidades de (1-4)- β -D-mananopiranosas (manosa) con unidades α -D-galactopiranosas (galactosa) unidas por enlaces (α -1,6) (Mathur 2012).

En la composición de todas las gomas, la tasa de manosa a galactosa, sirve para caracterizarlas. Así por ejemplo, en la goma de tara la relación manosa:galactosa es de 3:1, mientras que en la goma de algarrobo es de 4-4.5:1 y en la goma de guar de 2:1. Esta relación de manosa a galactosa de 3:1 para la goma de tara, la hace intermedia entre la goma guar (2:1) y la goma de algarrobo (4:1) (Wu *et al.* 2015). Se conoce por otro lado que la presencia de

unidades laterales de galactosa tiende a inhibir la agregación, por lo que gomas con más cadenas laterales son más fáciles de disolver en el agua, incrementando su viscosidad, lo cual presenta una relación adversa si se desea suplementar a animales, debido a que tiende a atrapar nutrientes (Mathur 2012).

Esta actividad espesante y gelificante de la goma de tara en particular, y de los β -galactomananos en general, es un inconveniente para su uso en alimentación de animales, puesto que afectan negativamente la absorción de nutrientes (Brufau *et al.* 2015). Es por esta razón, que es conveniente realizar el estudio de niveles máximos permitidos de goma de tara en animales. Por otro lado, la fragmentación de la goma de tara puede aportar beneficios para su utilización en alimentación animal. Cabe señalar que una dispersión acuosa al 1% de goma de tara tiene una viscosidad de 2000–3600 centipoise (cps). Esta viscosidad no cambia a valores de pH entre 3.0 y 7.5 (Mortensen *et al.* 2017).

2.4 MINERALIZACIÓN ÓSEA

La mineralización ósea se define como un proceso a través del cual una sustancia orgánica se impregna o se convierte en sustancias inorgánicas. Es por tanto un concepto teórico que incluye la transformación completa de un compuesto orgánico en compuestos inorgánicos (Bolvin y Meunier 2002). La mineralización del hueso, esencial para su fuerza y rigidez, involucra un proceso bien orquestado en el cual cristales de fosfato de calcio son producidos por células formadoras de hueso, las cuales lo depositan en momentos precisos dentro de la matriz fibrosa del hueso o andamiaje (Rath *et al.* 2000). Si el proceso no está apropiadamente regulado, el resultado puede ser de exceso o escaso depósito de mineral, cualquiera de los cuales compromete la salud del hueso (Bolvin y Meunier 2002; Rath *et al.* 2000; Sanchez-Rodriguez *et al.* 2019). Por otro lado, el dolor agudo y crónico y la mortalidad resultante de fracturas por osteoporosis plantean serios problemas de cuidado animal (Cook 2000) por la mortalidad incrementada resultante de enfermedades del esqueleto, lo que ha reportado una pérdida anual de 80 a 120 millones de dólares en los Estados Unidos (Sullivan 1994).

Los pollos modernos de alta producción han sido seleccionados exitosamente para reducir el tiempo que les lleva alcanzar el objetivo de ganancia de peso y conversión alimenticia. Sin

embargo, ha habido consecuencias de estos programas de selección. Hay una fuerte evidencia de efectos adversos sobre el sistema esquelético ocasionados por un rápido crecimiento a edad temprana (Hester 1994; Thorp y Waddington 1997). Así, por ejemplo, los huesos corticales de rápido crecimiento son altamente porosos, lo cual puede rápidamente conducir a deformidades de los huesos (Thorp y Waddington 1997).

La mineralización ósea ha sido estudiada con respecto al proceso, así como también la estructura física y química debido a que la mineralización de la matriz ósea del hueso es altamente importante. La mineralización influye en la fortaleza del hueso, la cual permite al esqueleto resistir la gravedad y la resistencia a la carga (Rath *et al.* 2000). De esta manera, la mineralización ósea influye en características de la fortaleza del hueso relacionadas a sus propiedades físicas (forma, tamaño, masa), de arquitectura (orientación de las fibras de colágeno) y químicas (moléculas de la matriz). Un hueso deformado, tal como una tibia doblada, tendrá diferente fuerza comparada a una tibia normal a pesar de tener propiedades materiales similares, tales como sus matrices mineral y orgánica. De manera similar, cambios en las propiedades de la matriz tales como baja calcificación debido a osteomalacia o aumento en la hidroxilación de colágeno pueden impedir el entrecruzamiento de colágeno y alterar la fortaleza del hueso (Rath *et al.* 2000; Yupanqui 2017).

2.5 MORFOMETRÍA DE LA TIBIA

La tibia es el hueso de más rápido crecimiento en el cuerpo y es considerado como el más sensible a las deficiencias de calcio y fósforo (Yan *et al.* 2005). En los animales se trata de un hueso largo, prismático, grueso que soporta el peso del cuerpo y se articula por la porción distal con el hueso tarsotibial o astrágalo (Sisson *et al.* 1985). En pollos de rápido crecimiento se han demostrado anomalías en los huesos corticales altamente porosos como la tibia. Un ejemplo de esto es la presentación de discondroplasia de la tibia (DT) descrita por primera vez por Leach y Nesheim (1965) como la aparición de una anomalía del cartílago que se presenta espontáneamente en pollos de engorde de 3 a 8 semanas de edad ocasionada por niveles bajos de calcio en la dieta y niveles altos de fósforo en la dieta. La tibia es por tanto un hueso importante que se usa para investigar, tanto anomalías en el crecimiento como

deficiencias nutricionales. Esta cualidad de la tibia para ser usada en evaluación de la mineralización ósea se debería a que la zona de proliferación en el desarrollo de la tibia del pollo joven es especialmente sensible a las deficiencias nutricionales de calcio y fósforo (Yan *et al.* 2005).

Las técnicas de evaluación del porcentaje de ceniza de la tibia en particular y de la morfometría de la tibia en general, son usadas ampliamente para evaluar aditivos tales como fitasas que liberan fósforo a partir del fósforo fítico de la dieta o para evaluar fuentes de vitamina D, las cuales pueden repercutir en mejorar la mineralización del hueso (Peceros *et al.* 2016). La tibia no es el único hueso que puede ser usado para evaluar el grado de mineralización del hueso. Así por ejemplo Shastak *et al.* (2012) demostraron que tanto la ceniza de la tibia como la del pie (zona del tarso) resultaron ser más sensibles que otros indicadores de mineralización tales como el fosfato inorgánico de la sangre y la ganancia de peso vivo para evaluar fuentes de fósforo mineral en pollos en períodos de 11 a 21 días y de 25 a 35 días.

La relación entre morfometría de la tibia y los indicadores de mineralización ósea con el contenido mineral de calcio y fósforo fueron demostrados por Onyango *et al.* (2003). Estos autores determinaron coeficientes de correlación entre diferentes indicadores de mineralización ósea del hueso de la tibia y el contenido mineral del hueso, encontrando que los coeficientes de correlación entre el porcentaje de ceniza y las variables: contenido mineral del hueso (CMH), la densidad mineral del hueso (DMH) y la fuerza de corte eran de 0.92, 0.93, y 0.67, respectivamente.

En el mismo estudio los coeficientes de correlación entre el calcio de la dieta y las variables CMH, DMH, fuerza de corte y porcentaje de ceniza fueron de 0.89, 0.91, 0.50, y 0.89, respectivamente. Los coeficientes de correlación entre el fósforo de la dieta y las variables: CMH, DMH, fuerza de corte y porcentaje de ceniza fueron de 0.88, 0.91, 0.48 y 0.89, respectivamente. Onyango *et al.* (2003) concluyen que la ceniza de la tibia, el contenido mineral del hueso, y la densidad mineral del hueso son más sensibles que la fuerza de corte, como indicadores de las concentraciones de calcio y fósforo en la dieta. Algunos autores por otro lado, también recomiendan utilizar la densidad mineral total de la tibia, así como la

densidad mineral subcortical y cortical tomográfica para evaluar la mineralización ósea en pollos hasta la tercera semana de edad (Shastak *et al.* 2012).

Utilizando estos indicadores de mineralización ósea, Peceros *et al.* (2016) no encontraron diferencias entre tratamientos suplementados con fitasa y 25-hidroxicolecalciferol de forma individual o en conjunto para las variables de porcentaje de cenizas o densidad de la tibia en pollos de 21 días. En dicho estudio, los valores de densidades de la tibia a los 21 días de edad para pollos fue 0.91 a 10.97 (g/ml). En relación al porcentaje de cenizas los valores estos autores encontraron valores entre 42.4 – 44.7%. Entre las características morfométricas de la tibia de pollos, Uculmana *et al.* (2018) reportan pesos de la tibia de 2.243 gramos, largo de 66.04 mm, ancho de 5.85 mm, volumen de 2.90 cm³ y densidad de 783.16 mg/cm³. Por otro lado, en pollos los 28 días de edad, Aguilar *et al.* (2018) reportan peso de las tibias de 3.28 gramos, peso de ceniza 1.56 gramos y porcentaje de ceniza en 44.4%

2.6. DESARROLLO Y MORFOMETRÍA DEL INTESTINO DELGADO EN POLLOS

La investigación de la dinámica de las células intestinales es crucial para comprender tanto la fisiología digestiva como la eficiencia de la producción animal. La capa epitelial del intestino, el sitio de la digestión y absorción de nutrientes, está compuesta por una población de células continuamente renovables en las cuales las células madre, ubicadas en la región de la cripta, dan lugar a células denominadas enterocitos (Perry 2006). La proliferación está restringida a las criptas en la base de las vellosidades, y su progenie migra hacia las vellosidades donde se especializan y pierden su capacidad para dividirse (Cheng y Leblond 1974). Las criptas pueden ser consideradas como una fábrica de vellosidades y unas criptas grandes indican rápido recambio de tejido y una alta demanda por tejido tisular nuevo.

Los intestinos de los pollos aumentan de peso más rápidamente que la masa corporal. La tasa de crecimiento de los intestinos en relación con el peso corporal es mayor a los 5-7 días de edad en pollos (Uni 1999; Van Leeuwen 2004). La longitud intestinal se incrementa en dos a tres veces hasta los 12 días de edad, mientras que el peso de los tres segmentos intestinales (duodeno, yeyuno e íleon) aumenta de siete a diez veces (Uni 1999; Van Leeuwen 2004).

Las vellosidades aumentan en tamaño y número, dándoles una mayor superficie de absorción por unidad de intestino. Este rápido desarrollo morfológico inmediatamente después de la eclosión presenta diferentes tasas de aumento en el volumen de vellosidades en el duodeno, el yeyuno y el íleon. Así por ejemplo, aunque el crecimiento de las vellosidades duodenales está casi completo en el día 7, el desarrollo del yeyuno y el íleon continúa más allá de los 14 días de edad (Uni *et al.* 1995). Por otro lado, la migración de enterocitos de la cripta a la vellosidad dura aproximadamente 72 horas en polluelos de 4 días de edad y 96 horas en aves de mayor edad (Uni *et al.* 1998b; Geyra *et al.* 2001). Se conoce además, que a partir de las 24–48 horas posteriores a la eclosión, estas células aumentan rápidamente en longitud y desarrollan una polaridad pronunciada y un borde de cepillo definido (Uni *et al.* 1998b).

Otra estructura del epitelio del tracto gastrointestinal es una capa mucosa que actúa como un medio de protección, lubricación y transporte entre el contenido luminal y las células epiteliales. La producción de mucus para el mantenimiento de la capa mucosa es responsabilidad de las células caliciformes (Montagne *et al.* 2003). Las células caliciformes surgen por mitosis de células madre pluripotenciales en la base de la cripta o de células poco diferenciadas en la región de la cripta inferior, denominadas células oligomucosas (Geyra *et al.* 2001).

La capa mucosa está compuesta predominantemente por glicoproteínas de mucina. Las mucinas se clasifican en subtipos neutros y ácidos, y también se distinguen por grupos sulfatados o no sulfatados (Perry 2006). Una vez que la mucina se sintetiza en las células caliciformes y se secreta a la superficie intestinal, forma una capa que sufre una continua degradación y renovación. La degradación de la capa mucosa es parte del equilibrio entre la secreción de la síntesis y la descomposición de la capa mucosa (Forstner y Forstner 1994; Forstner *et al.* 1995). En pollos de 3 semanas de edad, la mucosidad adherida es de espesor similar en todos los segmentos del intestino delgado maduro.

2.7. PREBIÓTICOS Y SUS EFECTOS EN SALUD INTESTINAL

2.7.1 Definición y generalidades.

Un prebiótico se define de acuerdo a Gibson y Roberfroid (1995) como: “Cualquier ingrediente alimenticio no digestible que afecta benéficamente al hospedero estimulando selectivamente el crecimiento o actividad de una o de un número limitado de bacterias en el colon y por tanto mejorando la salud del hospedero”. Otra definición actualizada del término es la siguiente: "Ingredientes fermentados selectivamente que permiten cambios específicos, tanto en la composición como en la actividad en la microbiota gastrointestinal y que confieren beneficios al bienestar y la salud del huésped" (Gibson *et al.* 2004).

Las bacterias estimuladas por los prebióticos, deben ser de una naturaleza benéfica, siendo principalmente *Bifidobacterias* y *Lactobacillus*; sin embargo, el éxito prebiótico ha sido predominantemente con los *Lactobacillus spp.* Esto se debería a que generalmente hay más *Bifidobacterias* en el colon de los animales que *Lactobacillus*, y a que estos últimos exhiben una preferencia por los prebióticos (Gibson *et al.* 2010).

Como norma general, los prebióticos deben ser capaces de soportar los procesos digestivos antes de que alcancen al colon y preferiblemente persistir a través del intestino grueso de manera que los beneficios se produzcan en la última porción del tracto gastrointestinal. (Gibson y Rastall 2006). Por otro lado, evidencia emergente también sugiere la importancia de la microbiota intestinal para la absorción mineral y la mineralización de los huesos, conocida como salud ósea. Esto será tratado más adelante.

2.7.2 Microbiota del intestino

Las células microbianas dentro y fuera de los organismos vivos tienen efectos sobre la salud. Estos microbios son denominados “microbiota”, mientras que los genes que codifican a estos microbios se conocen como “microbioma”. Las comunidades microbianas varían dependiendo del sitio del cuerpo, siendo el tracto gastrointestinal el que contiene cerca de 1000 especies microbianas con una actividad metabólica que rivaliza únicamente a la del hígado en humanos (Caricilli y Saad 2014).

La microbiota del intestino merece una mención distinta a la del resto del cuerpo debido a que juega un rol importante en los procesos fisiológicos que incluyen metabolismo de energía, suplementación de nutrientes, respuestas inmunes e inflamatorias (Caricilli y Saad 2014). La microbiota intestinal contribuye a una relación simbiótica dinámica con los seres vivos, permitiendo por ejemplo, el aprovechamiento eficiente de energía a partir de dietas ricas en carbohidratos. En dicha relación, la ingesta dietética del huésped proporciona la fuente de energía para los microbios que residen en el intestino delgado y el colon. Esta relación de simbiosis entre la microbiota intestinal y el organismo se extiende más allá de la alimentación del huésped y el hospedero (Cashman 2003).

Por otro lado, muchas investigaciones apoyan conexiones de la microbiota intestinal con la obesidad, alergia, disturbios en el comportamiento, enfermedades cardiovasculares, y algunos tipos de cáncer (Cashman 2003; Caricilli y Saad 2014). Está bien documentado que alguna microbiota intestinal puede causar enfermedades (*Escherichia coli*, *Clostridium spp*, *Salmonella spp*). Sin embargo, también se reconoce que muchos microbios del intestino son benéficos. Por ejemplo, las enzimas que sintetizan vitamina B12 son producidas por bacterias.

Lograr que el tracto gastrointestinal presente mayor cantidad de microorganismos benéficos con la finalidad de reducir la presencia de bacterias dañinas es una estrategia aceptada para mejorar la salud del intestino y la productividad en pollos (Scanes 2014). De acuerdo a Caricilli y Saad (2014) la dieta es uno de los más importantes formadores de diversidad en la microbiota intestinal.

Se ha sugerido que existen dos aproximaciones para incrementar el número de organismos promotores de la salud en el tracto gastrointestinal. La primera es la administración oral de microorganismos benéficos vivos. Esta es la aproximación conocida como “probióticos”, y es lograda mediante el consumo de bacterias probióticas las cuales son seleccionadas a partir de bacterias ácido-lácticas y bifidobacterias que forman parte de la microbiota intestinal de seres vivos. Sin embargo, dado que estos microorganismos se ubican en el colon, una segunda estrategia para incrementar su número es suplementar a aquellos que ya están presentes en el intestino con fuentes de energía que les provea de una ventaja competitiva sobre otras bacterias en el ecosistema, lo cual implica por tanto modificar selectivamente la composición

de la microbiota usando componentes de la dieta. Existe por tanto una gran variedad de componentes, conocidos como prebióticos, que pueden modificar la microbiota intestinal estimulando las bacterias del intestino, y que además presentan diversos efectos benéficos para la salud intestinal (Monteagudo-Mera *et al.* 2019).

2.7.3 Principales prebióticos usados en avicultura

La relación vellosidad:profundidad de cripta (RAPC) es usada como criterio para estimar la capacidad digestiva del intestino delgado. Factores tales como el tipo de fibra (viscosa vs. no viscosa), nivel de fibra y edad de las aves, así como también la composición de la dieta basal influyen en la respuesta del epitelio de la mucosa a la fibra de la dieta (Choct 2009; Savage 1997). Las sustancias que actúan como estresantes en la digesta pueden conducir a cambios rápidos en la mucosa intestinal debido a la proximidad de la superficie de la mucosa con el contenido intestinal. Cambios en la morfología intestinal, tales como vellosidades más cortas y criptas más profundas, han sido asociados a la presencia de toxinas. De acuerdo a este mismo autor, una disminución de las vellosidades disminuye el área de superficie para la absorción de nutrientes (Choct 2009).

En relación a fructooligosacaridos (FOS) y su efecto prebiótico en cuanto a la morfometría intestinal en pollos, Xu *et al.* (2003) reportaron que 0.4% de suplementación con FOS incrementaron significativamente la altura de la vellosidad ileal, la altura de las microvellosidades del yeyuno y del íleo y la relación altura de vellosidad con profundidad de cripta, mientras que disminuyó la profundidad de cripta en el yeyuno e íleo.

2.7.4 Gomas utilizadas como prebióticos

Los galactomananos, como ya se mencionó, son polisacáridos que se encuentran en la naturaleza, compuestos de un esqueleto lineal de unidades de manosa unidos por enlaces β -1,4 y de unidades de galactosa con enlaces α -1,6 aleatoriamente reunidas como cadenas laterales (Cheng y Prund'homme 2000). Algunas investigaciones han usado betagalactomananos tales como la goma de guar en forma parcialmente hidrolizada (GGPH)

como prebiótico demostrando su efecto sobre la reducción de la diarrea (Takahashi *et al.* 1993) y la constipación en humanos (Takahashi *et al.* 1994a). La GGPH también incrementa la biodisponibilidad del hierro de la dieta (Takahashi *et al.* 1994b), mejora el metabolismo de los lípidos (Ide *et al.* 1991) y disminuye el nivel de glucosa sanguínea en humanos en un estudio de voluntarios (Tsuda *et al.* 1998). La GGPH ha mostrado también modificar la microbiota *in vivo* en humanos (Okubo *et al.* 1984) y en animales (Takahashi *et al.* 1995).

En gallinas de postura desafiadas con una dosis de 3.2×10^6 ufc de *Salmonella enteritidis* a la semana diez de edad, la suplementación con 0.025% de GGPH, incrementó el número de *Bifidobacterium spp* y *Lactobacillus spp*. Por otro lado, la incidencia de *Salmonella enteritidis* sobre la superficie de la cáscara, en la clara y yema de huevo también se vio disminuida (Ishihara *et al.* 2000). Por otro lado, en estudios *in vitro* realizados por Carlson *et al.* (2015) demostraron los efectos prebióticos de la goma de guar parcialmente hidrolizada (GGPH) en un sistema de fermentación discontinuo. En dicho trabajo se compararon los efectos de la GGPH y dextrina de trigo (DT) sobre dos bacterias del ciego, *Lactobacillus* y *Bifidobacterium*. A las 12 horas la DT fue más bifidogénica que la GGPH (9.50 CFU log₁₀/mL vs. 9.30 CFU log₁₀/mL), respectivamente. El mismo resultado se produjo a las 24 horas (9.41 CFU log₁₀/mL vs. 9.27 CFU log₁₀/mL). DT produjo menos ácidos grasos de cadena corta (AGCC) tanto a las 12 y 24 horas que GGPH, y produjeron menos cantidades significativas de gas a las 12 y 24 horas. Ambas fibras promovieron el crecimiento de *Lactobacillus* cuando se les midió a las 12 y 24 horas comparados con la hora 0 de análisis, indicando que ambas fibras son lactogénicas.

Además de su efecto prebiótico a través de fermentación, las gomas pueden prevenir y evitar la invasión de bacterias patógenas. Así, por ejemplo, se conoce que las gomas inhiben la colonización por *Salmonella spp.*, en el intestino delgado evitando su adhesión. Así, la adhesión de ciertos patógenos como bacterias *Escherichia coli*, *Vibrio cholera* y *Salmonella spp* a las células epiteliales del intestino ocurre a través de la unión a un sustrato que se encuentra en la superficie de la mucosa, el cual es similar a una lectina manosa específica. Algunos prebióticos como las gomas presentan componentes similares a dicho sustrato de unión. Así, por ejemplo, la manosa, uno de los componentes de las gomas, inhibe la colonización del intestino delgado por bacterias que poseen fimbrias de Tipo I, como las

señaladas anteriormente. De esta forma, cepas bacterianas que poseen fimbrias Tipo I como *Salmonella typhimurium* se adhieren a las cadenas de manosa y en menor grado a cadenas de galactosa de ciertos prebióticos evitando la unión de estas bacterias dañinas al epitelio intestinal y por tanto su proliferación con la consecuente aparición de signos clínicos. Estas cepas también pueden ser inhibidas por metil- α -D-manosido y arabinosa (Oyofó *et al.* 1989).

Efectos de la goma de guar sobre la digestibilidad de nutrientes tales como grasas, proteína y carbohidratos (lactosa) se relacionan a la modificación en la microbiota intestinal y a la viscosidad de tal aditivo; observándose en el primer caso un efecto indirecto prebiótico sobre la digestibilidad de nutrientes. Diversos estudios han sido realizados por algunos autores (Maisonnier *et al.* 2003; Carré *et al.* 1005; Owusu-Asiedu *et al.* 2006) utilizando la goma de guar.

Se ha encontrado que la goma de guar disminuye la digestibilidad de lípidos y la concentración de sales conjugadas intestinales necesarias para la absorción de los lípidos. En dicho estudio evaluaron el efecto de la adición de goma de guar a nivel de 0.5% en dos tipos de pollos de carne seleccionados especialmente: un grupo libre de gérmenes (microbiota) en el intestino delgado y otros pollos convencionales con microbiota intacta. En el estudio, la concentración de sales biliares disminuyó por efecto de la goma de guar en ambos casos, provocando una disminución en la digestibilidad de lípidos. Este efecto de la goma de guar sobre las sales biliares se debería a la viscosidad que presenta la goma de guar, la cual a su vez reduce la eficiencia de las sales biliares intestinales para la digestión de los lípidos así como su reabsorción y en menor medida a la desconjugación de la bilis por incremento de la microbiota intestinal. En el mismo estudio se observó una incrementada actividad microbiana en el intestino delgado provocado por la viscosidad de la digesta apoyada en la observación de una alta proporción de componentes no conjugados de sales biliares totales en el intestino delgado de pollos con microbiota intestinal intacta y suplementados con goma de guar. Por otro lado, la adición de goma de guar (0.5%) incrementó la concentración de ácido láctico en el intestino delgado y disminuyó la concentración de ácidos grasos volátiles (Maisonnier *et al.* 2003).

En relación a la digestibilidad de lactosa, Carré *et al.* (1995) encontraron que la goma de guar tiene un efecto negativo sobre la digestibilidad de la lactosa provocando un incremento en la

concentración de ácido láctico y en su excreción. Esto demostraría el efecto de las gomas en incrementar bacterias de tipo gram positivo tales como los *Lactobacillus spp* en relación a bacterias de tipo gram negativo como *Salmonella spp*, en el intestino delgado. Este incremento de *Lactobacillus* traería como consecuencias una saturación en la fermentación de lactosa en el ciego de aves jóvenes. Al respecto, Owasu-Asiedu *et al.* (2006), en un trabajo realizado en cerdos, encontraron que la goma de guar a un nivel de 7% incrementa la población de *Lactobacillus*, *Bifidobacterias* y *Clostridios* en mayor medida de cerdos alimentados con celulosa en donde no hubo efecto sobre *Lactobacillus* y *Clostridium*.

Una reducción en la digestibilidad de proteína y energía fue observada en el mismo estudio realizado por Owusu-Asiedu *et al.* (2006). Este efecto sería debido a la viscosidad de la goma de guar. Al respecto, dichos autores señalan que el incremento en la viscosidad de la digesta provocaría una reducción en la interacción entre los sustratos y las enzimas digestivas. Cabe señalar que la celulosa pese a ser un polisacárido no almidonado insoluble, presentó un efecto similar al de la goma de guar en dicho estudio.

Pocos estudios han comparado a la goma de tara contra otros tipos de gomas como la de guar. No obstante, Yilmaz-Ersan *et al.* (2017) a través de un estudio *in vitro* compararon el efecto de la goma de tara y la goma de guar en su capacidad para promover el crecimiento *B. animalis subsp. lactis* y la reducción del pH en diferentes medios de cultivo: leche desnatada reconstituida (LDR) y caldo de extracto de levadura triptona peptona (ELT). Ambas gomas fueron comparadas contra dos controles en base a glucosa e inulina. Se encontró que una actividad acidificante más alta con goma guar en caldo ELT, así como goma tara y goma guar en LDR al compararla con una menor actividad acidificante para ambos controles en medio ELT y para inulina en LDR. En relación al recuento de *B. animalis subsp. lactis* se encontró que la adición de goma de tara generó un crecimiento mayor de esta bacteria en ELT, teniendo la goma de guar un efecto relativamente bajo sobre el crecimiento de *B. animalis subsp. Lactis*.

2.8. PREBIÓTICOS EN MINERALIZACIÓN ÓSEA.

Las fibras de la dieta y oligosacáridos están siendo estudiadas por su potencial para mejorar la salud del hueso en buena parte a través de su influencia sobre el metabolismo mineral (McCabe y Parameswaran 2015). Se conoce que los ácidos grasos volátiles de cadena corta (AGCC) producto de la fermentación bacteriana de este tipo de fibras, que incluyen butirato y propionato, solubilizan minerales, mejorando su absorción y subsecuente utilización (Cashman 2003).

Los oligosacáridos no digeribles (ONDs) son considerados actualmente como los prebióticos más prometedores para la salud del hueso. Estos compuestos incluyen galactooligosacáridos (GOS), fructooligosacáridos (FOS), oligofructosa e inulina. Estos compuestos varían en longitud de cadena, con un grado de polimerización de entre 4 a 10 (GP; número de monómeros de azúcar incluidos en cada cadena), pero también existen otros disacáridos de cadena corta y polisacáridos de cadena más larga. La inulina es un fructooligosacárido de cadena larga frecuentemente obtenida de la raíz de la achicoria (Cashman 2003).

Los efectos de la inulina, de FOS, su interacción, así como de otras fibras nuevas sobre la mineralización ósea, fueron estudiados por Weaver *et al.* (2010) en ratas al destete. Como resultado se encontró que la fibra soluble del maíz, así como la dextrina de fibra soluble presentan propiedades benéficas en la salud ósea incluyendo mayor contenido mineral óseo, mejor densidad, grosor cortical y fuerza que evite el rompimiento en la parte distal fémur. No obstante, en el mismo estudio, se encontró que a pesar de que la generación de ácidos grasos volátiles está correlacionada a la absorción de calcio y contenido cecal, no necesariamente esté relacionada a su efecto sobre el contenido de calcio en el hueso. Esto se demostró debido a que la inulina como fuente de fibra soluble tuvo la mayor producción de AGCC y mayor captación femoral de isótopos de calcio (^{45}Ca), pero la dextrina tuvo menor generación de AGCC y mayor concentración de calcio femoral. En este mismo estudio el contenido de calcio femoral y la fortaleza del hueso al rompimiento estuvieron más fuertemente correlacionados con el peso del ciego, sugiriendo un rol del ciego en la capacidad de absorción de calcio.

En otro estudio Chonan *et al.* (1995) demostraron que dietas conteniendo galactoligosacáridos estimularon la absorción intestinal de calcio en relación a la dieta control. Para realizar este experimento se usaron ratas ovariectomizadas a las que se les extrajeron ovarios, para simular la pérdida ósea normal, que se da posterior a la menopausia. En este experimento el peso de la ceniza del hueso y el contenido óseo de calcio de ratas ovariectomizadas alimentadas con prebióticos fueron significativamente mayores que aquellos animales alimentados con la dieta control.

Por otro lado, los prebióticos no solamente promueven la absorción de calcio, sino que también incrementan la absorción de hierro y otros minerales relacionados al hueso tales como magnesio y zinc y por tanto mejoran el contenido mineral y la salud del hueso (Scholz-Ahrens y Schrezenmeir., 2007; Cashman, 2003). En el estudio de Weaver *et al.* (2010) se encontró un efecto del tipo de fibra sobre la retención de otros minerales. La retención de cobre en ratas de acuerdo a este estudio fue mejorada por todas las fibras solubles e insolubles estudiadas (almidón resistente, fibra insoluble de maíz) excepto por la fibra insoluble proveniente de inulina.

2.8.1 Mecanismos de acción de los prebióticos sobre la absorción de calcio

El calcio en la dieta se encuentra como sales o asociado con otros constituyentes en la forma de complejos de iones de calcio (Ca^{2+}). El calcio debe ser liberado en forma soluble, y probablemente ionizado, antes de que sea absorbido, es decir antes de su transferencia desde el lumen intestinal al sistema circulatorio. Una vez que se encuentre en forma soluble, el calcio es absorbido por dos rutas, transporte transcelular y paracelular (Bronner 1987).

La mayor parte de la absorción de calcio en humanos se da en el intestino delgado, pero hay evidencia de que un 10% de la absorción de calcio se puede dar en el colon. Sin embargo, el intestino grueso puede representar un sitio de incrementada importancia para la absorción de calcio cuando la fermentación ácida, se lleva a cabo (Younes *et al.* 1986). Esto es importante en relación al consumo de prebióticos, que como se verá más adelante, producirán fermentación ácida en el intestino grueso.

Para entender la forma en que los prebióticos pueden contribuir en la absorción de calcio es necesario conocer las rutas de absorción de calcio, conocidas como transporte paracelular o no saturable y la de transporte transcelular o saturable. En la ruta de transporte paracelular la absorción de calcio involucra un transporte de calcio pasivo a través de las uniones estrechas entre las células de la mucosa; y es esencialmente independiente de regulación nutricional y fisiológica; y dependiente de la concentración de calcio. Por otro lado, el transporte transcelular o saturable de calcio, se produce a través del intestino delgado y es el mecanismo principal para la absorción de calcio en animales en presencia de vitamina D. De esta manera, cuando el calcio de la dieta es limitado, la vía transcelular activa saturable y dependiente de vitamina D, juega un rol más importante en la absorción de calcio (Cashman 2003).

Los mecanismos que usan los prebióticos para la absorción de calcio se clasifican en tres teorías: a) producción de ácidos grasos volátiles; b) cambios morfológicos en la estructura intestinal y en las proteínas de transporte de calcio y c) señalización del sistema inmune.

a. Efectos de los prebióticos sobre la producción de ácidos grasos volátiles

Las sustancias prebióticas que escapan de la digestión en el intestino delgado y terminan en el intestino grueso son sustratos para la formación a través de la microbiota del intestino, de ácidos grasos de cadena corta (AGCC, esencialmente acetato, propionato y butirato) y otros ácidos orgánicos (lactato) (Cashman 2003). En condiciones normales, el mismo autor señala que la concentración de ácidos grasos volátiles (AGV) en el ciego es alta y está formada principalmente por acetato, y menor cantidad de propionato y butirato. Esta concentración puede alcanzar 125 nM en pollos y 70 nM en el ganso.

Los niveles de AGV son más altos en la sangre portal de aves criadas convencionalmente en comparación de aves libres de gérmenes, sugiriendo que los AGV formados por las bacterias son absorbidos a través del tracto gastrointestinal. Los AGV son absorbidos tanto del intestino delgado como del ciego por transporte pasivo (Scanes 2014). Los AGV contribuyen a reducir el pH luminal en el intestino grueso, el cual se asocia con una cantidad incrementada de calcio soluble, especialmente en el ciego. Además, esta solubilidad incrementada puede conducir a un transporte paracelular incrementado de calcio en la parte distal del intestino delgado y el inicio del intestino grueso (van den Heuvel *et al.* 1999). También es posible que

los AGV influyan directamente en la ruta transcelular de absorción de calcio modificando el intercambio de H^+ por Ca^{2+} intracelular presente en el colon distal.

Las moléculas protonadas de AGV se difunden a lo largo de la membrana apical de las células epiteliales intestinales y una vez dentro de las células, estas se disocian, resultando en un incremento del H^+ intracelular, el cual es secretado desde la célula e intercambiado por Ca^{2+} a partir del colon distal. Una vez fuera de la célula el H^+ se hace disponible para protonar otra molécula de AGV. Por tanto, hay un intercambio incrementado de H^+ celular por Ca^{2+} del lumen del intestino (van den Heuvel *et al.* 1999).

b. Cambios morfológicos y proteínas de transporte de calcio

Además de los posibles efectos de las sustancias prebióticas sobre los procesos paracelulares o transcelulares de absorción de calcio, estas también influyen sobre la morfología del intestino y su superficie de absorción, posiblemente mediante una producción incrementada de butirato y/o de ciertas poliaminas (Cashman 2003). Al respecto, se han observado cambios tróficos en el colon lo cual incrementa el área disponible para la absorción mineral. Los ácidos grasos volátiles han sido asociados con una proliferación incrementada de las células de la mucosa intestinal, lo cual provoca una mayor densidad celular epitelial, mayor profundidad de cripta, y un mejor flujo de sangre a través del ciego en animales. Estos cambios morfológicos han sido asociados con una absorción de calcio incrementada luego del consumo de prebióticos.

Cambios adicionales a nivel celular luego del consumo de prebióticos pueden incluir incremento en las proteínas de transporte de calcio. Así, se ha demostrado una expresión incrementada de calbindina-D9K en el ciego y el colon luego de la suplementación con fructoligosacaridos (FOS) (Ohta *et al.* 1998). De esta manera, ciertos prebióticos pueden influenciar el transporte transcelular no saturable de calcio alterando la síntesis intracelular del receptor de vitamina D y la calbindina-D9K. El mecanismo por el cual las sustancias prebióticas modulan los niveles de calbindina D9k no está claro, pero pueden deberse a la síntesis incrementada de componentes bioactivos tales como butirato y posiblemente ciertas poliaminas (Scholz-Ahrens y Schrezenmeir 2002).

c. Señalización inmune

El microbioma puede también impactar sobre la absorción mineral a través de la interacción con el sistema inmune. En estudios con ratones libres de gérmenes se ha sugerido que la ausencia de microorganismos intestinales está asociada con reducida cantidad del factor de necrosis tumoral (TNF- α) y la expresión de células T, así como también con una mayor masa ósea como resultado de un reducido número de osteoclastos. Por el contrario, ratones criados convencionalmente tienen un número incrementado de osteoclastos y menor volumen óseo trabecular y cortical al ser comparados con ratones libres de gérmenes en el tracto gastrointestinal (Sjögren *et al.* 2012). La expresión de TNF α ha demostrado estimular la diferenciación de osteoclastos los cuales incrementan la reabsorción ósea y consiguiente desmineralización del hueso (Sjögren, *et al.* 2012).

Modificar el microbioma mediante la inclusión de prebióticos ha demostrado tener un efecto positivo sobre la respuesta inmune, la cual finalmente puede evitar la desmineralización del hueso provocada por inflamación (Mireles *et al.* 2005). En un estudio realizado por Janardhana *et al.* (2009), la adición de prebióticos, fructoligosacaridos o mananoligosacaridos (5 g/kg) a la dieta de pollos hasta el día 25 de edad provocó una reducción significativa en la proporción de células β y en la respuesta mitogénica de los linfocitos de las tonsilas cecales, consideradas como la principal porción del tejido linfoide asociado al intestino (TLAI). En otro estudio *in vitro*, Babu *et al.* (2012) demostraron el efecto de un fructoligosacarido enriquecido con inulina en la expresión de genes inflamatorios en macrófagos de pollos, sugiriendo que FOS-inulina tiene la capacidad de modular el sistema inmune, así como también mejorar la eliminación de *Salmonella enteritidis* y disminuir la activación de la inflamación. Estos trabajos estarían demostrando la relación entre prebióticos y respuesta inmune.

Por otro lado, la disminución en los procesos de inflamación mediada por los prebióticos tendría efectos sobre la reabsorción y mineralización ósea. Al respecto cabe señalar que la asociación entre inflamación y pérdida de masa ósea ha sido bastante estudiada y en enfermedades autoinmunes tales como la artritis en humanos, la reabsorción ósea osteoclástica se conoce que se produce por las células T activadas productoras de citocinas como fue señalado anteriormente (Sato *et al.* 2006).

En pollos Mireles *et al.* (2005) demostraron que la respuesta inflamatoria aguda altera la homeostasis del hueso y la respuesta humoral inmune. Para cuantificar los efectos de una fase aguda de respuesta en pollos de carne, los animales fueron inyectados con 1 mg/kg de lipopolisacáridos provenientes de *Escherichia coli* en el día 15 y 23 de edad. Esta dosis disminuyó el contenido de calcio en la tibia y la fuerza de rotura de la tibia. Por otro lado, en mamíferos los lipopolisacáridos (LPS) activan los osteoclastos y causan reabsorción ósea mediante citocinas proinflamatorias. Los efectos del estrés inflamatorio sistémico sobre el hueso pueden ser causados por cambios en la matriz extracelular o en la matriz mineral del hueso. La matriz extracelular del hueso modula la fuerza tensil del mismo, mientras que la matriz mineral provee fuerza de compresión y rigidez (Mireles *et al.* 2005; Mani 2012).

2.8.2. Efectos de los prebióticos sobre la mineralización ósea de aves

Trabajando en pollos de carne alimentados con dietas bajas en calcio (debajo de los requerimientos), Housmand *et al.* (2010) encontraron que la adición de aditivos, tales como probióticos, prebióticos, simbióticos y ácidos orgánicos tuvieron efectos benéficos en la mineralización normal del hueso de la tibia, a pesar de estar por debajo de los niveles óptimos de calcio. Al respecto, es conocido que el calcio tiene un rol importante en el desarrollo del hueso y en su fortaleza, y por tanto niveles subóptimos de calcio en la dieta pueden provocar diferencias en las características de la tibia en pollos. Esto se comprueba en el trabajo de Angel *et al.* (2005), donde se demostró que niveles subóptimos de calcio en la dieta redujeron la ceniza del hueso en pollos de carne.

En tal contexto de dietas subóptimas en calcio, Housmand *et al.* (2010) encontraron que las adiciones de los aditivos mencionados incrementaron significativamente ($p < 0.05$) la longitud, peso y porcentaje de ceniza de la tibia. El porcentaje de ceniza fue mayor en los cuatro tratamientos bajos en calcio con inclusión de probiótico (*Bacillus subtilis* y *Clostridium butyricum*), prebiótico (manano oligosacáridos), simbióticos (combinación de probiótico y prebiótico) o ácidos orgánicos (46.00, 46.07, 46.21 y 45.81; respectivamente) en relación al tratamiento control bajo en calcio sin la inclusión de ningún aditivo (43.63).

En este mismo trabajo se realizaron evaluaciones con indicadores de mineralización ósea. Al respecto, indicadores de robusticidad bajos fueron encontrados en dietas donde se usaron prebióticos, probióticos, simbióticos, o ácidos orgánicos (4.90, 5.03, 4.94, 4.95; respectivamente); siendo bajos y diferentes significativamente en comparación al control (5.13) consistente en la misma dieta baja en calcio, pero sin la inclusión de aditivos. Por lo expuesto, implicaría que existe una mejor mineralización ósea del hueso proporcionada por el uso de aditivos en dietas bajas en calcio en pollos de carne, debido a que un bajo índice de robusticidad, indica una fuerte estructura del hueso. No obstante, el índice de Seedor, obtenido al dividir el peso de la ceniza del hueso por la longitud del mismo (Seedor *et al.* 1991), no mostró diferencia estadística significativa entre tratamientos.

Świątkiewicz *et al.* (2010) encontraron en gallinas, que la inclusión de aditivos tales como oligofruktosa (0.75%), inulina (0.75%), ácidos grasos volátiles (0.50%) y ácidos grasos de cadena media (AGCM, 0.25%) tuvieron efectos sobre la calidad de la cáscara en la semana 46, 58 y 70 de edad, siendo más pronunciados para el caso de la inulina y ácidos grasos de cadena media. Por otro lado, en un ensayo de alimentación con 240 pollos de carne para evaluar el efecto de la inulina sobre la performance, la medición del tracto gastrointestinal, retención aparente de minerales (Ca, Mg, Fe, Zn y Cu) y las medidas del hueso y del contenido mineral de la tibia (ceniza y calcio) a diferentes niveles de inulina de 5, 10, 15 y 20 g/kg, se encontró que la dieta con inulina incrementa la concentración de ceniza y calcio en la tibia. Este efecto no se refleja en la morfología del hueso (peso, largo y ancho). Por otro lado, se observó mejora en la retención aparente de Ca, Zn, y Cu (arriba de 18.4, 35.5, 466, respectivamente) sin afectar la retención aparente de Mg (Ortiz *et al.* 2008).

No siempre la performance de crecimiento va de la mano con una mejora en la salud ósea o intestinal. Así por ejemplo la performance de crecimiento y las mediciones del tracto intestinal no mostraron respuesta a los niveles de inulina cuando se les comparó con una dieta control y otra dieta con antibióticos (Ortiz *et al.* 2008). Biggs *et al.* (2007) alimentando pollos a 4 y 8 g/kg de inulina tampoco encontraron efectos sobre la performance de crecimiento de pollos jóvenes. De forma similar, pero en pavos, Stanczuk *et al.* (2005) no encontraron respuesta positiva sobre la ganancia de peso vivo con la inclusión 4 g/kg de inulina. En contraste, Yusrizal y Chen (2003) mostraron que la inulina mejoró la performance de

crecimiento de aves hembras, pero no de machos. La variabilidad en la efectividad de la inulina puede ser debida a diferentes factores: nivel de inclusión, tipo de dieta, características del animal y grado de higiene (Verdonk *et al.* 2005).

2.9 RELACIÓN ENTRE LAS MEDIDAS MORFOMÉTRICAS DEL HUESO CON LA MORFOMETRÍA INTESTINAL, EL PESO CORPORAL Y ÓRGANOS DEL TGI

2.9.1 Interacciones entre la morfometría intestinal, contenido mineral y morfométrico del hueso

Algunos autores como Weaver *et al.* (2010) trabajando en pollos y Perez-Conesa *et al.* (2004) con estudios realizados en ratas, han evaluado el efecto de algunas fibras nuevas sobre el contenido de calcio y la resistencia del hueso al rompimiento en pollos; estableciendo al mismo tiempo relaciones morfométricas entre los órganos del tracto gastrointestinal, con morfometría del hueso y peso de vísceras. Así por ejemplo Weaver *et al.* (2010) hipotetizaron que fibras que producen ácidos grasos volátiles (AGV) debido a la fermentación en el ciego mejorarían la utilización de minerales a través de una solubilización incrementada por un pH disminuido y consecuentemente, el contenido mineral del hueso y sus propiedades mecánicas. No obstante, se encontró en su trabajo una mayor relación entre la producción de ácidos grasos volátiles y el peso del ciego ($r = 0.59$, $p < 0.0001$) que con la utilización mineral de calcio y fósforo. La relación entre los ácidos grasos volátiles y el contenido mineral en el hueso fémur disminuyó para los siguientes minerales evaluados: Zn ($r = 0.27$, $p = 0.0007$), Mg ($r = 0.26$, $p = 0.0014$), Ca ($r = 0.19$, $p = 0.02$), Fe (no significativo). El peso del ciego, estuvo más relacionado con el contenido mineral de calcio ($r = 0.30$, $p = 0.0015$ para los ácidos grasos volátiles, pero no para otro mineral óseo).

De acuerdo al estudio realizado por Weaver *et al.* (2010) queda evidenciado mediante las correlaciones, que existe mayor asociación entre la producción de ácidos grasos volátiles con el contenido mineral de ciertos minerales del hueso tales como el zinc, magnesio y calcio, y la mayor relación existente entre el peso del ciego y el contenido mineral de calcio en el hueso. En otro trabajo realizado en ratas, Perez-Conesa *et al.* (2007) establecieron las

relaciones entre valores de pH del contenido del colon y del ciego y los parámetros de histología (profundidad de cripta y densidad celular) de la mucosa del intestino. De acuerdo a los estudios de correlación, el pH del contenido del ciego no estuvo correlacionado con la profundidad de cripta o la densidad de celular del ciego. En contraste, el contenido del pH del colon estuvo correlacionado negativamente con la profundidad de cripta tanto del colon proximal como del colon distal (-0.773 y -0.489, respectivamente) y con la densidad celular del colon distal ($r = -0.644$).

Por otro lado, en relación a la absorción aparente del calcio Perez-Conesa *et al.* (2007), encontraron correlaciones negativas en la absorción de Ca con el pH del contenido del colon ($r = -0.502$) y correlaciones positivas entre la absorción de Ca con la profundidad de cripta y la densidad celular del colon proximal ($r = 0.418$ y 0.556 , respectivamente) y colon distal ($r = 0.870$ y 0.581 , respectivamente). De lo anterior se desprende la alta correlación entre la absorción de calcio con la profundidad de la cripta del colon distal de ratas (0.870).

En el mismo trabajo de Perez-Conesa *et al.* (2007), se realizó un análisis de componente principal para identificar las relaciones entre el contenido mineral de la tibia (Ca, Mg y P) y el fémur y variables morfológicas en el ciego (profundidad de cripta y densidad celular) en el colon y el pH de los contenidos del ciego y el colon en ratas. De acuerdo a los resultados obtenidos el Ca y P en el fémur y la tibia estuvo relacionado con el incremento en la profundidad de cripta y el número de células epiteliales en el colon y a la disminución del pH de los contenidos del ciego y del colon. Por otro lado, en relación al Mg, se encontró que el contenido de este mineral solo fue afectado en la tibia y no en el fémur y se relacionó al incremento en la profundidad de la cripta y al número de células epiteliales en el colon.

2.9.2 Interacciones entre el peso del páncreas con el contenido mineral y morfométrico del hueso

La relación entre el contenido mineral del hueso, la morfometría ósea y el peso del páncreas se puede establecer mediante el conocimiento actual que indica la existencia de un eje que integra el metabolismo energético y mineral (Pi y Quarles 2013; Oury *et al.* 2014; Nava-González *et al.* 2015). A pesar que no se tienen trabajos en pollos de carne acerca de esta

relación energética y mineral, se puede extrapolar de trabajos realizados en otras especies. Así, por ejemplo, de acuerdo a González-Rozas y Pérez (2014), el hueso ejerce influencia sobre el metabolismo energético. Se ha encontrado en ratones, que el hueso participa en el control glucémico, promoviendo la proliferación de células β del páncreas, aumentando la expresión y secreción de insulina y adiponectina. Al parecer el mediador biológico de estas acciones en el metabolismo energético es la osteocalcina (OC).

Estudios *in vitro* usando islotes de células pancreáticas y de células β y adipocitos han demostrado que cantidades picomolares de OC son suficientes para regular la expresión de los genes de la insulina y de proliferación de células β , mientras que cantidades nanomolares afectan la producción de adiponectina por parte del adipocito de la grasa parda y blanca. De igual manera, estudios *in vivo* utilizando ratones han mostrado la misma diferencia en la capacidad de la osteocalcina para regular el metabolismo de la glucosa por un lado, y para influenciar la sensibilidad a la insulina y el tejido graso por el otro. Esto ha comprobado que una mayor concentración sérica de osteocalcina en el ratón incrementa la población de células β pancreáticas (verificado histológicamente en tejido pancreático) e induce una mayor concentración sérica de adiponectina (González-Rozas y Pérez 2014).

Entre los órganos viscerales, la masa del tracto gastrointestinal es la más sensible a la influencia de las características de la dieta y en particular a los niveles de fibra (Casas *et al.* 2009). Al respecto, la relación entre el peso del páncreas y el peso vivo en pollo ha sido más estudiada que la relación páncreas y hueso. La relación páncreas con peso vivo puede ser influenciada por efecto de la dieta. Así, por ejemplo, el reemplazo de torta de soya por harina de frijoles crudos de acuerdo a un estudio realizado por Emiola *et al.* (2007) genera un pobre crecimiento en el pollo como resultado de alteraciones en el páncreas que generan hipertrofia e hiperplasia de las células de este órgano. Es probable que el efecto se deba a la ingestión de inhibidores de tripsina presentes en dichas legumbres. En este estudio, el peso relativo del páncreas estuvo incrementado significativamente ($p < 0.05$) como resultado de hipertrofia acinar del páncreas.

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), del Departamento de Nutrición de la Facultad de Zootecnia, de la Universidad Nacional Agraria de La Molina (UNALM).

3.2 ANIMALES EXPERIMENTALES

Se emplearon 200 pollos BB de la Línea Cobb 500, machos de un día de edad, 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 21 días. El experimento fue llevado a cabo en dos 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.

3.3 CARACTERÍSTICAS FÍSICAS QUÍMICAS DE LA GOMA DE TARA

Los efectos de la goma de tara como fibra soluble serán considerados como efectos de fibra añadida sobre la base considerada de la fibra proveniente de la dieta base maíz-soya. La goma de tara fue adquirida de la Empresa Molinos Asociados S.A.C y presenta las siguientes características físicas: polvo blanco, inodoro, con una viscosidad de 5820 cps y 3790 cps en disolución caliente y fría, respectivamente. Sus características químicas son: galactomananos 87.38%, proteínas 2.21%, grasas 0.19%, cenizas 0.90%, humedad 7.72% y total de metales pesados 1.25 mg/kg.

3.4 TRATAMIENTOS.

Los tratamientos a evaluar fueron los siguientes:

Tratamiento 1 (T1): Dieta control (sin goma de tara).

Tratamiento 2 (T2): Dieta con 0.05% de goma de tara.

Tratamiento 3 (T3): Dieta con 0.10% de goma de tara.

Tratamiento 4 (T4): Dieta con 0.15% de goma de tara.

Tratamiento 5 (T5): Dieta con 0.20% de goma de tara.

Las dietas experimentales fueron formuladas siguiendo las especificaciones nutricionales de la Línea Cobb 500 (Cobb-Vantress 2014). La composición y valor nutricional calculado así como la composición de la premezcla de vitaminas y minerales de las dietas experimentales se muestra en el Cuadro 1.

Cuadro 1. Composición porcentual y valor nutricional de las dietas experimentales.

Ingredientes (%)	Tratamientos ¹				
	T1	T2	T3	T4	T5
Maíz	57.98	57.87	57.77	57.66	57.56
Torta de soya	33.74	33.76	33.78	33.80	33.82
Aceite de soya	4.57	4.61	4.64	4.67	4.07
Fosfato dicálcico	1.66	1.66	1.66	1.66	1.66
Carbonato de calcio	0.84	0.84	0.84	0.84	0.84
Sal común	0.47	0.47	0.46	0.46	0.46
DL Metionina	0.26	0.26	0.26	0.26	0.26
Premezcla vitaminas + minerales **	0.12	0.12	0.12	0.12	0.12
Cloruro de colina 60	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10
Adsorbente de micotoxinas	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05
HCl Lisina	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15
Antioxidante	0.013	0.013	0.013	0.013	0.013
Goma de tara	0.00	0.05	0.10	0.15	0.20
Valor Nutricional (Calculado, %)					
Energía metabolizable, kcal kg ⁻¹	3072	3072	3072	3072	3072
Proteína bruta	20.5	20.5	20.5	20.5	20.5
Fibra cruda	2.89	2.89	2.88	2.88	2.88
Calcio	0.87	0.87	0.87	0.87	0.87
Fósforo disponible	0.44	0.44	0.44	0.44	0.44
Lisina disponible	1.12	1.12	1.12	1.12	1.12
Metionina disponible	0.55	0.55	0.55	0.55	0.55
Met + Cis disponible	0.84	0.84	0.84	0.84	0.84
Treonina disponible	0.73	0.73	0.73	0.73	0.73
Triptófano disponible	0.21	0.21	0.21	0.21	0.21
Sodio	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20

¹ T1: dieta control, T2: dieta basal con goma de tara (0.05%), T3: dieta basal con goma de tara (0.10%), T4: dieta basal con goma de tara (0.15%), T5: dieta basal con goma de tara (0.20%).

** Vitamina A, 12 000 000 UI; Vitamina D, 2 500 000 UI; Vitamina E, 30 000 UI; Vitamina B₂, 5 500 g; Vitamina B₆, 3 000; Vitamina B₁₂, 0.015 g; Vitamina K₃, 3 g; Vitamina B₉, 1g; Vitamina B₃, 30 g; Vitamina B₅, 11 g; Vitamina B₈, 0.15 g; Zinc, 45g; Hierro, 80 g; Manganeso, 65 g; Cobre, 8 g; Yodo, 1 g; Selenio, 0.15 g; excipientes 1 000 g.

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

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

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

3.6 METODOLOGÍA PARA LA PREPARACIÓN DE LOS TEJIDOS HISTOLÓGICOS

En el día 21 se seleccionaron 5 aves por cada unidad experimental con buen estado de salud. Luego de realizarse el sacrificio, y con las vísceras expuestas, se cortó un segmento del intestino delgado correspondiente a la zona del yeyuno de aproximadamente 2 cm, ubicado a unos 8 cm antes del divertículo de Meckel. Cada muestra fue colocada en tubos de 10 ml con formol al 10%. Las muestras fueron remitidas al Laboratorio del Histopatología Aviar,

Facultad de Zootecnia, Universidad Nacional Agraria La Molina para ser procesadas en láminas histológicas.

El procedimiento para la fabricación de láminas histológicas fue el mismo que el empleado por Eusebio (2007). La muestra se retiró del formol al 10% y se lavó con agua corriente para proseguir con la deshidratación la cual se llevó a cabo en 3 pasos:

- a. Dos baños con alcohol de 70⁰ por 1 hora cada uno.
- b. 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.
- c. 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, terminando de esta forma 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, estas láminas fueron coloreadas con 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 95⁰ 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 perteneciente a cada ave muestreada por unidad experimental (n=5) con 2 cortes histológicos longitudinales por lámina del mismo animal, 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 30 mediciones en cada lámina histológica para la altura y grosor de vellosidad y profundidad de cripta. Las mediciones se realizaron usando un microscopio óptico de marca Leica (USA) 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, dando el valor en micrómetros (μm).

3.6.1 Indicadores de morfometría intestinal.

a. Altura de vellosidad

Se seleccionaron vellosidades íntegras y perpendiculares a la pared intestinal. El promedio de las alturas de vellosidades de las 20 láminas histológicas (5 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 20 láminas histológicas (5 por cada repetición), fue el promedio del grosor de vellosidad de cada tratamiento.

b. 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.

c. 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.

d. 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.

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

e. Área de vellosidad

El área de la vellosidad fue hallada asumiendo que la vellosidad tiene una forma cilíndrica, siguiendo el protocolo de evaluación usado por Zhang *et al.* (2005) citado por Eusebio (2007). Se usó la siguiente fórmula:

$$\text{Área de vellosidad} = \text{altura de la vellosidad}^* \times \text{grosor de la vellosidad}^*$$

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

3.7 METODOLOGÍA PARA LA OBTENCIÓN DE HUESOS Y ÓRGANOS.

Los animales fueron sacrificados por dislocación cervical e inmediatamente después se realizó la necropsia respectiva con la finalidad de obtener las muestras (Bowes y Julian 1988). A las aves se les retiró el hígado, el proventrículo junto con la molleja, los intestinos, el corazón y la pechuga.

Se retiraron las patas del cuerpo. Para identificar individualmente a cada pata como proveniente de un animal, ambas patas fueron introducidas en mallas mosquiteras con un número plastificado, formando en cada caso un envoltorio.

Este envoltorio fue llevado a agua hirviendo por el lapso de 15 minutos para remover el tejido del hueso (Kocabagli 2001; Applegate y Lilburn 2002; Moraes 2006), procedimiento que no altera el contenido mineral ni la densidad del hueso, ni la resistencia a la rotura (Orban *et al.* 1993) pero permite retirar hasta el 80% de grasa contenida en los huesos (Almeida *et al.* 2008). Luego se retiraron manualmente los tejidos y cartílagos presentes en las zonas de articulación siguiendo el procedimiento de Baumel *et al.* (1993) para obtener las tibias (tibiotarsos). Los huesos fueron limpiados con papel toalla y colocados en un recipiente plástico. Una semana después se realizaron las mediciones respectivas. La tibia de la pata izquierda fue enviada al laboratorio para determinación de ceniza. La tibia de la pata derecha fue usada para la determinación de la resistencia del hueso.

3.7.1 Indicadores de morfometría ósea

a. Determinación de cenizas

Para determinar el porcentaje de ceniza de la tibia, la pierna izquierda fue removida y procesada de acuerdo al procedimiento descrito por Baumel *et al.* (1993). Brevemente, las tibias de los pollos sacrificados fueron hervidas para remover los tejidos y capas de cartílagos. Muestras de tibias secadas y molidas se extrajeron para remover la grasa usando aparato Soxhlet. Luego, las muestras extraídas fueron calcinadas en un calefactor eléctrico y ubicadas en una mufla a 550°C por 5 horas y el peso de la ceniza de cada muestra fue expresada como un porcentaje de peso del hueso seco (A.O.A.C. 2005).

b. Determinación de la resistencia ósea

Las tibias de las patas derechas fueron limpiadas mediante la metodología por raspado, la cual se refiere a la limpieza del hueso en crudo, retirando todo el exceso de carne, grasa y cartílago sin hervir de acuerdo a la metodología descrita por Yupanqui (2017). El valor de la

resistencia se determinó con la utilización del durómetro en las unidades kilogramo-fuerza (kgf). Para la metodología de la resistencia ósea, se colocó el hueso del ave en la placa del durómetro y se calculó la resistencia a la fractura por flexión estática. El análisis se realizó con la máquina de ensayo mecánico Force Gauge Model FG-5020. Los datos fueron colectados directamente de la máquina por medio de un programa computacional. Las tibias fueron apoyadas sobre la región epifisiaria. La fuerza fue aplicada en la región media central de la diáfisis de cada hueso, siempre en el mismo punto. La variable medida fue dureza, que es la fuerza máxima de fractura para quebrar el hueso, siendo la medición de masa necesaria para causar la primera fractura, la resistencia se presenta en kilogramofuerza (kgf) (Yupanqui 2017).

c. Morfometría ósea

- **Peso del hueso**

Se tomó el peso del hueso con una balanza analítica de sensibilidad ≥ 0.01 mg.

- **Densidad**

La densidad ósea se determinó mediante la volumetría del hueso (Quarantelli *et al.* 2007); de esta forma, se consideró como densidad ósea a la masa de material orgánico e inorgánico en el hueso por unidad de volumen del mismo (Rath *et al.* 2000).

- **Largo de huesos**

Se midió el largo de la tibia de las aves que fueron sacrificadas el día 21, se consideró la longitud de extremo a extremo de cada hueso. Los valores se presentaron en milímetros (mm).

- **Ancho de huesos**

Se midieron dos diámetros, el diámetro latero-lateral (DLL) y el diámetro cráneo-caudal (DCC), ambos a nivel del centro de la diáfisis (Martínez 2012) de los huesos de la tibia de las aves que serán sacrificadas el día 21. Con estos datos, se obtuvo el valor promedio del diámetro de la diáfisis (DP), que se expresó en milímetros (mm) y se calculó con la siguiente fórmula.

$$DP = (DLL + DCC)/2$$

- **Volumen de los huesos**

Se midió el volumen de la tibia de las aves que fueron sacrificadas el día 21. Al medir el desplazamiento de agua con la ayuda de probetas graduadas se pudo determinar el volumen de cada hueso (cm³), luego que este fuera sumergido completamente en la probeta (Sato, 1995; Zhang y Coon 1997; Quarantelli *et al.* 2007).

d. Indicadores de mineralización ósea

- **Índice modificado de Seedor**

Este índice fue inicialmente propuesto por Seedor *et al.* (1991) como indicador de la densidad y calidad ósea (Souza da Silva 2010), para ser calculado en base al peso de las cenizas. Sin embargo, desde entonces en diferentes estudios se ha empleado una modificación de este índice considerando el peso del hueso entero y no solo de ceniza (Monteagudo *et al.* 1997; Kocabagli 2001; Mendes *et al.* 2016; Moraes 2006). El Índice modificado de Seedor se basa en el concepto de que es la fracción mineral del hueso la que contiene la mayor densidad específica. Así, cuando mayor es este índice mayor es la densidad del hueso. Se calcula empleando la siguiente fórmula:

$$\text{Índice modificado de Seedor} = \frac{\text{Peso, mg}}{\text{Largo, mm}}$$

- **Índice de Quetelet**

Este índice, también llamado índice de masa corporal, fue propuesto por Adolphe Quetelet alrededor de 1740. Es ampliamente utilizado en medicina humana para determinar la obesidad y ha sido empleado en estudios con pollos de carne (Rutten *et al.* 2002). Si bien se expresa de manera estándar en kg/m², los valores reportados en mg/mm² son numéricamente idénticos. Cuanto menor es el Índice de Quetelet, el hueso es relativamente más liviano pero más largo, mientras que cuanto mayor es el índice, el hueso es relativamente más pesado, pero más corto; siendo lo primero más deseado en aves. Se calculará empleando la siguiente fórmula:

$$\text{Índice de Quetelet (mg/mm}^2\text{)} = \frac{\text{Peso, mg}}{(\text{Largo, mm})^2}$$

- **Índice de Robusticidad**

Este índice fue propuesto por Alphonse Riesenfeld en 1972 y ha sido empleado en estudios con pollos de carne (Kocabagli 2001). Cuanto menor es este índice se considera que la estructura del hueso es más fuerte. Se calculará empleando la siguiente fórmula.

$$\text{Índice de robusticidad} = \frac{\text{Largo, cm}}{\sqrt[3]{\text{Peso, g}}}$$

3.8 METODOLOGÍA PARA LA DETERMINACIÓN DE COLESTEROL Y GLUCOSA.

Las muestras sanguíneas para la determinación de colesterol y glucosa fueron drenadas en la mañana del sacrificio a partir de la vena del ala izquierda por punción en aves en ayuno desde la noche anterior, obteniéndose 10 µL de sangre. Los niveles de colesterol fueron determinados con el medidor de colesterol Mission® con una sensibilidad para colesterol de 100-500 mg/dl. Los niveles de glucosa fueron determinados con el medidor ACCU-CHEK (Roche) con una sensibilidad de 10 a 600 mg/dl.

3.9 METODOLOGÍA PARA ESTABLECER LAS RELACIONES ENTRE VARIABLES MORFOMÉTRICAS DEL INTESTINO Y LAS MEDIDAS MORFOMÉTRICAS DEL HUESO.

Todos los animales fueron etiquetados con un número en el dorso el día 1, y en el día 21, al momento del sacrificio, las distintas partes del cuerpo del animal a ser evaluadas fueron separadas de acuerdo al número colocado en la etiqueta.

3.10 ANÁLISIS ESTADÍSTICO.

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

La relación entre la morfometría intestinal, morfometría, índices y mineralización de la tibia; así como la relación entre el peso de las vísceras y los niveles de colesterol sanguíneo y glucosa se establecieron a través de la Correlación de Pearson (SAS 1999). Para analizar los datos, se utilizó el paquete estadístico de SAS (Statistical Analysis System, SAS Institute 1999)

IV RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 EFECTO DE LOS NIVELES DE GOMA DE TARA SOBRE EL COMPORTAMIENTO PRODUCTIVO EN POLLOS.

En el Cuadro 2 se muestran los efectos de los niveles de goma de tara sobre el comportamiento productivo de pollos de carne. El peso vivo final y la ganancia de peso fueron afectados significativamente ($p < 0.05$) por los niveles de goma de tara siendo diferente y mayor en T3 (0.10%) en relación a T4 (0.15%) y T5 (0.20%), e igual a T2 (0.05%) y T1 (0.0%). Esta diferencia en el día 21 fue similar al día 14 de edad, manteniéndose además la tendencia de mayor peso para T3 (0.10%), T2 (0.05) y T1 (0.0%) sobre T4 (0.15%) y T5 (0.20%) como se muestra en el Cuadro 3. La conversión de alimento fue mayor en T3 (0.10%) en relación a T1 (0.0%), T4 (0.15%) y T5 (0.20%); no obstante, estos resultados, la conversión alimenticia no presentó diferencia estadística. Estos resultados concuerdan con los de Brufau *et al.* (2015) quienes, utilizando β -galactomananos provenientes de Goma de Duraio, Goma de Cassia en 1 g/kg (0.1%) en pollos desafiados con *Salmonella enterica* serovar *enteritidis*, no encontraron diferencia significativa en el peso vivo, ganancia de peso diario, conversión alimenticia de pollos a los 23 días de edad entre el tratamiento control y los tratamientos que las fuentes de β -galactomananos.

En los resultados obtenidos en el actual experimento, se puede demostrar que niveles superiores a 0.10% afectan los parámetros productivos de pollos de engorde, lo cual estaría demostrando un efecto de depresión cuando el consumo es mayor en T4 (0.15%) de goma de tara. Al respecto, Maisonnier *et al.* (2003) encontraron que alimentando a pollos con goma de guar (0.5%) hubo una disminución en el peso y la ganancia de peso de 7 a 21 días.

Cuadro 2: Comportamiento productivo de pollos de carne alimentados con dietas con diferentes niveles de goma de tara (Período de 1 a 21 días de edad).

Medición	TRATAMIENTOS ¹				
	T1	T2	T3	T4	T5
Peso vivo inicial, g/ave	47.93 ^{2a} ± 0.30	47.81 ^a ± 0.85	47.98 ^a ± 0.25	47.62 ^a ± 0.60	47.73 ^a ± 0.48
Peso vivo final, g/ave	831.76 ^{ab} ± 18.48	833.61 ^{ab} ± 22.69	841.20 ^a ± 39.65	764.40 ^c ± 20.88	788.00 ^{bc} ± 40.67
Ganancia de peso g/día	37.33 ^{ab} ± 0.87	37.42 ^{ab} ± 1.06	37.77 ^a ± 1.89	34.14 ^c ± 0.99	35.25 ^{bc} ± 1.92
Consumo de alimento, g/día	44.92 ^c ± 2.04	47.82 ^a ± 4.85	45.51 ^a ± 7.65	44.17 ^a ± 1.73	45.29 ^a ± 1.00
Conversión alimenticia, g/g	1.24 ^a ± 0.07	1.31 ^a ± 0.14	1.26 ^a ± 0.18	1.35 ^a ± 0.06	1.36 ^a ± 0.10
Mortalidad, %	0.4 ^a	1.2 ^b	1.2 ^b	0.4 ^a	0.4 ^a

¹ T1: dieta basal sin goma de tara (control), T2: dieta basal con goma de tara (0.05%), T3: dieta basal con goma de tara (0.10%), T4: dieta basal con goma de tara (0.15%), T5: dieta basal con goma de tara (0.20%).

² Valores son el promedio y desviación estándar de cuatro repeticiones (diez aves por repetición) por tratamiento.

^{a,b,c} Superíndices diferentes dentro de filas indican diferencia estadística (p<0.05)

Cuadro 3: Efecto del nivel de la goma de tara sobre el peso vivo de pollos a los 7, 14 y 21 días de edad.

	7 DÍAS	14 DÍAS	21 DÍAS
T1	178.55 ^{2a} ± 5.18	469.35 ^a ± 11.45	831.76 ^{ab} ± 18.48
T2	177.44 ^a ± 6.34	472.43 ^a ± 19.52	833.61 ^{ab} ± 22.69
T3	177.11 ^a ± 7.55	473.69 ^a ± 12.59	841.20 ^a ± 39.65
T4	172.51 ^a ± 8.20	436.21 ^b ± 11.11	764.40 ^c ± 20.88
T5	177.75 ^a ± 6.81	451.51 ^{ab} ± 18.04	788.00 ^{bc} ± 40.67

¹T1: dieta basal sin goma de tara (control), T2: dieta basal con goma de tara (0.05%), T3: dieta basal con goma de tara (0.10%), T4: dieta basal con goma de tara (0.15%), T5: dieta basal con goma de tara (0.20%).

² Valores son el promedio y desviación estándar de cuatro repeticiones (diez aves por repetición) por tratamiento.

^{a,b,c} Superíndices diferentes dentro de filas indican diferencia estadística (p<0.05)

4.2 EFECTO DE DIFERENTES NIVELES DE GOMA DE TARA SOBRE LOS PESOS DEL PÁNCREAS, CIEGO, PESO Y LARGO DEL INTESTINO, NIVELES DE GLUCOSA Y COLESTEROL

En el Cuadro 4 se muestra el efecto de distintos niveles de goma de tara sobre los pesos del páncreas, ciego, peso y largo del intestino, niveles de glucosa y colesterol. No se encontraron diferencias estadísticas para las variables peso del páncreas, peso del ciego, peso y largo del intestino, glucosa o colesterol. El largo del intestino no presenta diferencia estadística entre tratamientos ($p>0.05$) siendo mayor en T3 (0.10%) en relación a T1 (0.0%) y T4 (0.15%). Estos datos no concuerdan con Mateos *et al.* (2012) quienes señalan que las aves responden rápidamente a cambios en el contenido de fibra, modificando la longitud del intestino, el peso de órganos y la tasa de pasaje a través de diferentes segmentos del tracto gastrointestinal. En relación al páncreas, existe evidencia de algunos factores tales como ingredientes que pueden afectar su peso y tamaño. Así por ejemplo, la ingestión de inhibidores de tripsina provenientes de legumbres, tales como la harina de frijoles crudos y sin cáscara provocan hipertrofia e hiperplasia del páncreas (Emirole *et al.* 2007). De igual forma ocurre con ingredientes que contienen fibra soluble como la cebada (Bedford 1996).

De acuerdo a algunos autores como Al-Kassie *et al.* (2008) y Fernández *et al.* (1995) la fibra soluble puede tener efectos reductores sobre los niveles de colesterol y glucosa. Así por ejemplo, Fernández *et al.* (1995) señalan que la ingesta de goma de guar puede alterar el metabolismo endógeno disminuyendo los niveles de colesterol hepático, alterando la homeostasis de colesterol hepático y reduciendo las concentraciones de LDL del plasma.

En el presente trabajo, no se encontraron diferencias estadísticas significativas para los niveles de colesterol y glucosa ($p>0.05$) entre tratamientos. El promedio para colesterol es 173.74 ± 36.65 mg/dl. De acuerdo a Meluzzi *et al.* (1992), los niveles normales de colesterol total en pollos se encuentran entre 87 a 192 mg/100 mL con un promedio de 140 mg/100 mL, mientras que los niveles de colesterol libre se encuentran en el rango de 27 a 199 mg/100 mL, con un promedio de 73.3 mg/100 mL. Estos resultados son diferentes a los encontrados por Al-Kassie *et al.* (2008) quienes encontraron reducción tanto en los niveles de colesterol como en glucosa en pollos con suplementación en la dieta por un probiótico (*Aspergillus*

Cuadro 4: Efecto de diferentes niveles de goma de tara sobre el peso del páncreas, peso del ciego, peso y largo del intestino, niveles de glucosa y colesterol (Período de 1 a 21 días de edad).

Medidas	T1 ¹	T2	T3	T4	T5
Peso del páncreas, mg	2.65 ^a ± 0.28	2.78 ^a ± 0.28	2.70 ^a ± 0.35	2.43 ^a ± 0.15	2.38 ^a ± 0.20
Peso del ciego, mg	4.93 ^a ± 0.36	4.77 ^a ± 0.75	5.08 ^a ± 0.42	5.19 ^a ± 0.52	4.69 ^a ± 0.78
Peso del intestino, mg	32.22 ^a ± 1.59	31.67 ^a ± 1.40	32.95 ^a ± 3.76	29.55 ^a ± 2.87	30.28 ^a ± 2.80
Largo del intestino, mm	140.18 ^a ± 2.08	141.85 ^a ± 2.84	147.10 ^a ± 5.07	139.85 ^a ± 6.92	146.40 ^a ± 6.83
Glucosa, mg/dl	138.5 ^a ± 14.32	132.5 ^a ± 11.13	130.70 ^a ± 9.09	134.40 ^a ± 16.22	131.85 ^a ± 12.18
Colesterol, mg/dl	161.42 ^a ± 23.73	178.04 ^a ± 42.06	181.60 ^a ± 17.00	169.47 ^a ± 5.17	183.05 ^a ± 32.95

¹ T1: dieta basal sin goma de tara (control), T2: dieta basal con goma de tara (0.05%), T3: dieta basal con goma de tara (0.10%), T4: dieta basal con goma de tara (0.15%), T5: dieta basal con goma de tara (0.20%).

² Valores son el promedio y desviación estándar de cuatro repeticiones (dos aves por repetición) por tratamiento.

^{a,b,c} Superíndices iguales dentro de filas indican que no hay diferencia estadística ($p > 0.05$)

niger) o un prebiótico (*Taraxacum officinale*) encontrando valores de 186.5 ± 3.2 y 199.0 ± 5.98 para colesterol y glucosa en el caso de *A. niger* y 183.5 ± 4.40 y 189.5 ± 3.70 para *Taraxacum officinale*.

En trabajos realizados en gallinas, usando el prebiótico inulina, en base a fibra soluble a dosis mayores a las utilizadas en este experimento (2%), sí se encontraron efectos sobre los niveles de colesterol (Shang *et al.* 2013). Por otro lado, en concordancia con los resultados presentados sobre los efectos de la fibra soluble en los niveles de colesterol, Brown *et al.* (1999) mediante un metanálisis realizado en humanos, no encontraron evidencias en la reducción de los niveles de colesterol usando goma de guar; concluyendo que el incremento de fibra soluble ofrece no representa una terapia dietaria para disminuir el colesterol. De igual manera Evans *et al.* (1992) trabajando en ratas encontraron poco efecto en reducir el colesterol del plasma al comparar dos fibras solubles en base a goma.

4.3 EFECTO DE DIFERENTES NIVELES DE GOMA DE TARA SOBRE LA MORFOMETRÍA DE LAS TIBIAS.

En el Cuadro 5 se muestran los efectos de distintos niveles de goma de tara sobre el peso, ancho y largo de la tibia, Índice de Seedor, Índice de Quetelet, Índice de Robusticidad (Anexos III, IV, V, VI, VII y VIII). La tibia en aves ha sido ampliamente estudiada debido a la sensibilidad celular a numerosas deficiencias en la dieta (Leach y Lilburn 1992) y a su alta tasa de crecimiento en comparación con otros huesos largos (Buckner *et al.* 1950); además, la tibia es el hueso más largo y el que tiene la tasa de crecimiento más alta en comparación con el fémur y el metatarso. No se encontraron diferencias estadísticas ($p > 0.05$) entre las características morfométricas de los huesos y los indicadores de mineralización ósea en los distintos tratamientos. Los mayores promedios estuvieron en el T2 (0.05%) para el peso y ancho de hueso de la tibia y en T3 (0.10%) para el largo de la tibia. El ancho de la tibia no presentó diferencias significativas entre las dietas experimentales (Cuadro 5). Los valores reportados de peso de la tibia son menores a los reportados de 67.20 mm (Applegate y Lilburn 2002). De igual forma, valores numéricos similares del ancho de los huesos fueron encontrados por Applegate y Lilburn (2002), quienes para el ancho de la tibia encontraron

Cuadro 5. Características morfométricas de las tibias y respuestas del grado de mineralización de pollos de carne de 21 días de edad alimentados con distintos niveles de goma de tara.

Medidas	T1¹	T2	T3	T4	T5
Peso de la tibia, mg	2.17 ^a ± 0.05	2.23 ^a ± 0.21	2.15 ^a ± 0.16	2.06 ^a ± 0.11	2.12 ^a ± 0.09
Largo de la tibia, mm	64.06 ^a ± 0.66	63.73 ^a ± 2.24	64.96 ^a ± 0.79	63.26 ^a ± 1.55	63.79 ^a ± 0.87
Ancho de la tibia, mm	5.90 ^a ± 0.30	6.20 ^a ± 0.16	5.98 ^a ± 0.25	6.02 ^a ± 0.09	5.86 ^a ± 0.36
Densidad, mg/cm³	0.67 ^a ± 0.06	0.66 ^a ± 0.01	0.65 ^a ± 0.05	0.64 ^a ± 0.02	0.68 ^a ± 0.02
Índice de Seedor, mg/mm	0.033 ^a ± 0.001	0.034 ^a ± 0.004	0.033 ^a ± 0.002	0.032 ^a ± 0.001	0.033 ^a ± 0.001
Índice de Quetelet, mg/mm²	0.00050 ^a ± 1.80E-05	0.00052 ^a ± 3.67 E-05	0.00051 ^a ± 3.15 E-05	0.00050 ^a ± 1.23 E-05	0.00052 ^a ± 1.39 E-05
Índice de Robusticidad, cm/³√Peso, g	5.01 ^a ± 0.075	4.92 ^a ± 0.083	5.02 ^a ± 0.084	5.02 ^a ± 0.027	4.99 ^a ± 0.022

¹ T1: dieta basal sin goma de tara (control), T2: dieta basal con goma de tara (0.05%), T3: dieta basal con goma de tara (0.10%), T4: dieta basal con goma de tara (0.15%), T5: dieta basal con goma de tara (0.20%).

² Valores son el promedio y desviación estándar de cuatro repeticiones (dos aves por repetición) por tratamiento.

^{a,b,c} Superíndices iguales dentro de filas indican que no hay diferencia estadística (p>0.05)

5.47 mm. La densidad del hueso es un importante indicador de mineralización ósea que permite conocer el estado de salud del esqueleto (Almeida Paz *et al.* 2008). Tal indicador, puede ser medido de forma directa, como en el presente estudio, o empleando métodos que permiten su estimación, como la absorciometría de rayos-X de energía dual (Angel *et al.* 2006). Teniendo en cuenta únicamente las medidas usadas, se conoce que la sensibilidad de la morfometría o mineralización ósea es variable. Así por ejemplo, Uculmana *et al.* (2018) encontraron que el porcentaje de cenizas es la variable que presenta mayor sensibilidad al grado de mineralización del hueso.

Los resultados del presente trabajo no concuerdan con trabajos realizados con prebióticos (Coudray *et al.* 1997) o probióticos (Sadegui *et al.* 2014). Así por ejemplo Coudray *et al.* 1997, al evaluar el efecto de la suplementación de fibra parcial y completamente soluble de remolacha en la absorción y balance de calcio en hombres jóvenes, encontraron que la ingestión de inulina mejora significativamente la absorción aparente y el balance de calcio. Por otro lado, Sadegui *et al.* (2014), trabajando con probióticos encontraron efectos de *Bacillus subtilis*, sobre los contenidos de ceniza y calcio en el hueso en pollos desafiados con *Salmonella enteritidis*.

Al respecto, nuestros resultados pueden diferir de los de Sadegui *et al.* (2014) debido a que no se realizaron en condiciones de desafío. Así por ejemplo, se sabe que los betagalactomananos tales como la goma de tara, pueden ligar a ciertos agentes infecciosos como la *Salmonella spp*, evitando el ingreso de lipopolisacáridos de bacterias gram negativas, los que al atravesar la barrera intestinal y generar inflamación, provocan desmineralización ósea mediante la estimulación de la secreción de citocinas inflamatorias inmune como el factor de necrosis tumoral (TNF- α), la interleucina 1 (IL-1) e interleucina 6 (IL-6) (Aliya *et al.*, 2015). Por tanto, la goma de tara, puede presentar efecto en la mineralización ósea en condiciones de desafío con *Salmonella spp*; no obstante, en el presente estudio no se determinó su efecto sobre la morfometría ósea en pollos de carne.

Por otro lado, los resultados del nuestro estudio coinciden con trabajos como el de Housmand *et al.* (2010) quienes tampoco encontraron efecto de prebiótico o probióticos sobre la

mineralización ósea. No obstante, el mismo autor señala que la adición de los aditivos mencionados incrementaron significativamente ($p < 0.05$) la longitud, peso y porcentaje de ceniza de la tibia cuando los niveles de calcio se encontraban por debajo de lo normal.

4.4 EFECTO DE DIFERENTES NIVELES DE GOMA DE TARA SOBRE LA MORFOMETRÍA DE LAS VELLOSIDADES INTESTINALES

En el Cuadro 6, se observa el resultado de los parámetros de morfometría intestinal del yeyuno. La altura, el ancho, el área de las vellosidades y el número de células caliciformes no presentan diferencia estadística significativa ($p > 0.05$) entre tratamientos (Anexo I).

La altura de vellosidad no presentó diferencia estadística entre tratamientos. No obstante, el T3 (0.1%), junto con el T2 (0.05%) presentaron valores más altos, motivo por el cual, la relación altura de vellosidad con profundidad de cripta mostró diferencia significativa ($p < 0.05$) como se verá más adelante. Son numerosos los trabajos que relacionan la mayor altura de vellosidad como un efecto positivo de aditivos tipo prebiótico en la morfometría intestinal de pollos (Loddi *et al.* 2004; Pelicano *et al.* 2005). No obstante, en algunos trabajos el incremento en la altura de la vellosidad no se relacionó con el uso de tales aditivos. Así por ejemplo, Ramos *et al.* (2004), no encontraron diferencia significativa en la altura de vellosidad de pollos criados de 1 a 21 días de edad.

El ancho de vellosidad no presenta diferencia estadística significativa ($p > 0.05$) entre tratamientos. 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 (Smith *et al.* 1980). Al respecto Smith *et al.* (1980) señalan que varias enfermedades de malabsorción están relacionadas a cambio en la estructura de las vellosidades con aumento del ancho de las vellosidades, aplanamiento de la superficie de la mucosa o pérdida del patrón de las vellosidades. Por otro lado, el área de vellosidad tampoco presentó diferencia estadística entre tratamientos ($p > 0.05$). El área de vellosidad es una variable que puede estar relacionada a la tasa de proliferación celular (Cook y Bird 1973), por tanto se puede deducir que la goma de tara no tiene efecto en incrementar la proliferación de las células intestinales de las células intestinales de las vellosidades.

Cuadro 6: Efecto del nivel de goma de tara sobre la altura, ancho, área de vellosidad, profundidad de cripta, número de células caliciformes y relación altura con profundidad de cripta de las vellosidades intestinales del yeyuno².

	Altura de vellosidad (μm)	Ancho de vellosidad (μm)	Área de vellosidad (μm^2)	Profundidad de cripta (μm)	Células caliciformes	Relación altura de vellosidad con profundidad de cripta
T1	876.19 ^a	97.170 ^a	75746 ^a	188.60 ^a	58.76 ^a	5.13 ^b
T2	1009.37 ^a	89.450 ^a	81757 ^a	180.80 ^{ab}	65.46 ^a	6.10 ^{ab}
T3	975.38 ^a	90.161 ^a	81506 ^a	150.20 ^c	64.70 ^a	7.23 ^a
T4	940.79 ^a	88.130 ^a	77283 ^a	158.46 ^{bc}	62.52 ^a	6.35 ^{ab}
T5	964.35 ^a	93.211 ^a	80923 ^a	160.91 ^{abc}	62.29 ^a	6.40 ^{ab}

¹ T1: dieta basal sin goma de tara (control), T2: dieta basal con goma de tara (0.05%), T3: dieta basal con goma de tara (0.10%), T4: dieta basal con goma de tara (0.15%), T5: dieta basal con goma de tara (0.20%).

² Valores son el promedio de cuatro repeticiones (dos aves por repetición) por tratamiento.

^{a,b,c} Superíndices diferentes dentro de filas indican diferencia estadística ($p < 0.05$)

La profundidad de cripta presentó diferencia estadística ($p < 0.05$). En profundidad de cripta la menor profundidad la obtuvo T3 (0.10%) siendo diferente a T1 (0.0%) y T2 (0.05%) y similar a T4 (0.15%) y T5 (0.20%); por otro lado, T4 (0.15%), es menor a T1 (0.0%), pero similar a T2 (0.05%) y T5 (0.20%). De acuerdo a los resultados, el nivel de 0.1% de goma de tara, tuvo un efecto favorable sobre la profundidad de la cripta, manteniéndola corta. Estos resultados de profundidad de cripta corta en pollos alimentados con aditivos coinciden con Pelicano *et al.* (2005).

Situaciones contrarias de criptas más profundas se dan en condiciones de desafío. Así por ejemplo, Cook y Bird (1973) reportaron criptas más profundas cuando el recuento de bacterias patógenas se incrementa en el tracto gastrointestinal, lo cual resulta en menor absorción. Así mismo, Ao *et al.* (2008) claramente mostró una conexión entre una mayor profundidad de cripta en pollos broilers desafiados con *Clostridium perfringens*.

La menor profundidad de cripta es una característica deseada en relación a la producción animal (Imondi y Bird 1966; Potten 1998). Criptas más profundas indican una rápida rotación del tejido para renovar vellosidades, la cual se da en respuesta a procesos de inflamación debidos a patógenos o sus toxinas (Yason *et al.* 1987; Anonymous 1999). De esta forma, un acortamiento de las vellosidades y criptas profundas puede llevar a una mala absorción de nutrientes, un aumento de la secreción en el tracto gastrointestinal y un menor rendimiento (Xu *et al.* 2003).

La relación altura de vellosidad con profundidad de cripta fue estadísticamente diferente entre T3 (0.10%) y T1 (0.10%) ($p < 0.05$). Al igual que en el caso de la profundidad de cripta, una cantidad mayor en la relación altura de vellosidad y profundidad de cripta es considerada favorable. Así, por ejemplo, Awad *et al.* (2009) encontraron que la suplementación de pollos de engorde con simbióticos o probióticos tuvo efecto sobre la relación la altura de vellosidad y profundidad de la cripta en el duodeno y el íleon, respectivamente ($p < 0.05$). Esto coincide con los resultados presentados en este experimento, donde la relación altura de vellosidad con la profundidad de cripta presentó diferencias estadísticas para el T3 (0.1%) en relación a T1 (0.0%). En contraste, disminución en la relación entre la altura de las vellosidades y la profundidad de las criptas se relacionan directamente con el aumento de la rotación de las células epiteliales (Fan *et al.* 1997).

La goma de tara podría estar protegiendo al epitelio intestinal de la presentación de desafíos bacterianos. Esto se desprende del hecho que bajo estas condiciones, la relación se incrementa. Así por ejemplo, Choct (2009) encontró que el crecimiento pobre, depresión en la conversión del alimento y alta tasa de mortalidad en la enteritis necrótica coincidía con una disminución en la relación altura de vellosidad y profundidad de cripta en pollos broilers desafiados con *C. perfringens*.

El número de células caliciformes no presenta diferencia estadística significativa ($p > 0.05$) entre tratamientos. Este resultado es contrario a Savage *et al.* (1997) quienes encontraron que la inclusión de manano oligosacáridos (MOS) incrementó el número de células caliciformes en el duodeno y yeyuno, además de elevar la altura de las vellosidades y reducir la profundidad de la cripta en pollos.

4.5. RELACIÓN DE LAS MEDIDAS MORFOMÉTRICAS DEL HUESO Y MORFOMÉTRICAS DEL INTESTINO CON EL PESO VIVO.

En el Cuadro 7, se observa la relación entre las medidas morfométricas del hueso, las medidas morfométricas del intestino y el peso vivo. El peso vivo presenta una relación moderada con el peso del hueso (0.63), el ancho del hueso (0.52) y el largo del hueso (0.41). La profundidad de cripta es la medida morfométrica del intestino que mejor se relaciona con las medidas morfométricas del peso (0.35) y largo (0.40) del hueso. De igual forma, el peso vivo presenta una relación baja y significativa con la profundidad de cripta (0.23). Por otro lado, la profundidad de cripta tiene relaciones bajas y significativas con el peso del páncreas (0.21) y el peso del intestino (0.20) e inversa con la altura de las vellosidades (-0.23). Al respecto, una mayor profundidad de cripta en animales estaría indicando el inicio de un proceso inflamatorio lo cual conlleva a un aumento en la renovación del epitelio intestinal.

La relación encontrada entre el incremento de la profundidad de la cripta y el peso vivo ($r = 0.23$), estaría indicando que el estudio de las medidas morfométricas del intestino (yeyuno) son relevantes para la evaluación de parámetros de producción en aves, tales como el peso vivo o la conversión alimenticia y que la profundidad de cripta es la que presenta mayor importancia. Por otro lado, se conoce que un aumento en el peso del intestino se puede deber

Cuadro 7: Coeficientes de correlación de las medidas morfométricas del hueso, de las vellosidades intestinales y el peso vivo en pollos a los 21 días de edad.

	PESO VIVO	PESO DE HUESO	LARGO DE HUESO	ANCHO DE HUESO	ALTURA DE VELLOSIDAD	ANCHO DE VELLOSIDAD	AREA DE VELLOSIDAD	PROFUNDIDAD DE CRIPTA
PESO VIVO	1.000	0.64**	0.41*	0.52*	0.11	0.06	0.13	0.23*
PESO DE HUESO		1.00	0.57**	0.16	0.03	0.03	0.03	0.36**
LARGO DEL HUESO			1.00	0.44**	0.08	0.15	0.15	0.40**
ANCHO DEL HUESO				1.00	0.21	0.06	0.26*	0.09
ALTURA DE VELLOSIDAD					1.00	-0.11	0.90**	-0.26**
ANCHO DE VELLOSIDAD						1.00	0.27*	0.17
AREA DE VELLOSIDAD							1.00	-0.23*
PROFUNDIDAD DE CRIPTA								1.00

* Asteriscos indican diferencia estadística (p<0.05)

** Asteriscos indican diferencia estadística (p<0.01)

a un aumento en el peso del animal sin relacionarse necesariamente con un incremento en la deposición de masa muscular. La mejor relación encontrada entre la profundidad de cripta y la medida morfométrica del largo del hueso ($r = 0.40$) y el peso del hueso ($r = 0.36$) es similar a los resultados observados por Perez-Conesa *et al.* (2007) quienes encontraron correlaciones positivas entre la absorción de Ca con la profundidad de cripta y la densidad celular del colon proximal ($r = 0.418$ y $r = 0.556$, respectivamente) y colon distal ($r = 0.870$ y $r = 0.581$, respectivamente) en ratas. Al respecto cabe señalar que los procesos inflamatorios del intestino provocan un incremento en la profundidad de la cripta de las vellosidades intestinales. Se podría hipotetizar que en caso de inflamación intestinal, el incremento de la profundidad de la cripta, además de permitir la renovación de las vellosidades intestinales, estaría apoyando el proceso de absorción de calcio de forma más relevante que la tradicional absorción de calcio denominada transcelular dependiente de vitamina D. No se encontró relación entre las medidas de la altura, ancho y área de vellosidad con el peso vivo o las medidas morfométricas del hueso, excepto para el área de vellosidad con el ancho del hueso ($r = 0.26$)

4.6 RELACIÓN DE LAS MEDIDAS MORFOMÉTRICAS DEL HUESO CON EL PESO DE LAS VÍSCERAS Y EL PESO VIVO DE LOS POLLOS AL DÍA 21.

El Cuadro 8 muestra las relaciones entre el peso vivo con las medidas morfométricas del hueso, peso de vísceras del pollo a los 21 días de edad (Anexo IX y X). La correlación más alta del peso vivo fue con el peso del hueso ($r = 0.64$), seguida del peso del intestino ($r = 0.58$), el peso del páncreas ($r = 0.57$) y el largo del intestino ($r = 0.43$).

A su vez, el peso del páncreas mantuvo una relación moderada y significativa con el peso del intestino ($r = 0.44$), con el peso del hueso ($r = 0.41$), pero baja con el largo del intestino ($r = 0.22$). Al respecto, la relación páncreas y hueso ($r = 0.43$) puede ser explicada por Oury *et al.*, (2013) quienes establecen que el hueso puede funcionar como un órgano regulador del metabolismo energético. Así, por ejemplo, se ha encontrado en dicho estudio realizado en ratones que el tejido óseo participa en el control glucémico, promoviendo la proliferación de células β , explicando de esta forma la relación entre el peso del hueso y el peso del páncreas.

Cuadro 8: Coeficientes de correlación del peso vivo con las medidas morfométricas del hueso, peso de vísceras del pollo a los 21 días de edad.

	PESO VIVO	PESO PANCREAS	PESO CIEGO	PESO INTESTINO	LARGO INTESTINO	PESO HUESO
PESO VIVO	1.00	0.57**	0.07	0.58**	0.43**	0.64**
PESO PANCREAS		1.00	0.06	0.44**	0.22*	0.41**
PESO CIEGO			1.00	0.22*	0.31*	0.27*
PESO INTESTINO				1.00	0.56**	0.40**
LARGO INTESTINO					1.00	0.33**
PESO HUESO						1.00

* Asteriscos indican diferencia estadística (p<0.05)

** Asteriscos indican diferencia estadística (p<0.01)

El mediador biológico de estas acciones en el metabolismo energético sería la osteocalcina (OC), una molécula proteica no colágena abundante en el hueso y secretada por el osteoblasto. Esta molécula actúa como una hormona multifuncional sobre las células β del páncreas incrementando la secreción de insulina. Es de esperar por tanto que la secreción de osteocalcina proveniente del hueso incremente el peso del páncreas (González-Rozas y Pérez 2014).

El peso del ciego mantuvo relaciones bajas con el peso y largo del intestino ($r = 0.22$ y $r = 0.31$; respectivamente); y con el peso del hueso ($r = 0.27$). No se encontró relación entre el peso del ciego y el peso vivo del pollo a esta edad. Según Weaver *et al.* (2010), el peso del ciego se relaciona con medidas morfométricas como la densidad del hueso ($r = 0.23$, $p < 0.02$) y de forma más relevante con la resistencia del hueso a la fractura ($r = 0.35$, $p = 0.0002$). Al respecto, algunos autores señalan que una mayor solubilidad del calcio en el ciego debido a la fermentación de fibras y alteración del pH pueden mejorar la mineralización del hueso (Perez-Conesa 2007).

El peso del intestino se relacionó de forma regular con el peso del hueso ($r = 0.40$), siendo mayor esta relación que la encontrada entre el peso del hueso y el largo del intestino ($r = 0.33$). El intestino puede estar relacionado al peso del hueso de forma hormonal, la cual además de los efectos conocidos del calcio, vitamina D y la calcitonina y parathormona, ahora incluye el efecto de incretinas que a diferencia de las anteriormente mencionadas responden al plano nutricional, alto o bajo, sobre la mineralización ósea. Por otro lado, un mayor peso del intestino, podría implicar que microscópicamente haya incremento en las algunas de las estructuras de las vellosidades como la altura de vellosidad o profundidad de cripta. Al respecto, en humanos hay osteopenia por efecto de enfermedades inflamatorias, no obstante, algunos autores señalan que la osteopenia se debería al efecto de antiinflamatorios y no a la inflamación del intestino. Trabajos en pollos han considerado que en tratamientos en los cuales se incluyeron prebióticos, se observaron incrementos en la mineralización ósea. La hipótesis sugerida, sería que se debe a una disminución en la inflamación del intestino. No obstante, un incremento en la profundidad de cripta con la consecuente mayor absorción de calcio, estaría en contra de estos resultados. Al respecto, de acuerdo a los resultados de Sadegui *et al.* (2014) en pollos donde se demostró que como consecuencia de suplementar a

pollos con probióticos desafiados con *Salmonella enteritidis* hubo una mejor mineralización de los huesos a diferencia de los no suplementados con probióticos pero desafiados, se podría deducir que cualquier proceso de inflamación a nivel del intestino podría incrementar el tamaño de la profundidad de cripta, el cual a su vez tendría repercusiones en la mineralización del hueso. Así por ejemplo se ha determinado que citosinas tales como la interleucina 1 (IL-1), la interleucina 6 (IL-6), y el factor de necrosis tumoral (TNF α) liberados en procesos de inflamación a nivel del intestino, pueden afectar el proceso de mineralización de los huesos. Este incremento en la profundidad de cripta como consecuencia de la inflamación podría tener efectos ya sea en la matriz inorgánica como en la orgánica del hueso.

4.7. RELACIÓN ENTRE EL PESO VIVO, PESO DEL PÁNCREAS, MORFOMETRÍA ÓSEA, NIVELES DE GLUCOSA Y COLESTEROL

El Cuadro 9 muestra las relaciones entre el peso vivo, peso del páncreas, morfometría ósea, niveles de glucosa y colesterol (Anexo XI). El peso vivo presenta correlaciones regulares con el peso del hueso ($r=0.63$), regular con la resistencia a la fractura (0.47) y bajas con el largo (0.38) y ancho del hueso (0.36), mientras que el peso del hueso tiene relaciones positivas regulares con el ancho (0.39) y largo del hueso (0.50). Estas relaciones son similares a las encontradas en gallinas por Kolakshyapati *et al.* (2019) para la relación entre el peso vivo con el peso del hueso ($r = 0.56$) y resistencia a la fractura ($r = 0.59$); no obstante difieren en la relación entre el peso vivo con largo del hueso ($r = 0.64$) y ancho del hueso ($r = 0.61$). Al respecto, se conoce que la geometría ósea responde a los cambios en el peso corporal y la masa corporal adicional aumenta la tensión de carga aplicada al sistema esquelético y, por lo tanto, su composición y fuerza. La relación regular encontrada en el presente trabajo entre el peso vivo del pollo con el largo y ancho del hueso (0.38 y 0.36, respectivamente), la cual es menor al caso de las gallinas descrito por Kolakshyapati *et al.* (2019) se debería a que algunos parámetros como el ancho del hueso y la densidad mineral se siguen incrementando con la edad alcanzando recién su pico a las 4 o 5 semanas de edad (Sanchez-Rodríguez *et al.* 2019).

La relación entre el peso vivo y el peso del páncreas es buena y en sentido positivo (0.65) y no presenta correlación con el nivel de glucosa y colesterol.

Cuadro 9: Coeficientes de correlación del peso vivo, medidas morfométricas del hueso, porcentaje de ceniza, resistencia a la fractura, peso del páncreas, niveles de glucosa y colesterol.

	Peso vivo	Peso del hueso	Ancho del hueso	Largo del hueso	Porcentaje de cenizas	Resistencia a la fractura	Peso Páncreas	Glucosa	Colesterol
Peso vivo	1	0.63**	0.38*	0.36*	-0.29*	0.47*	0.65**	-0.01	-0.02
Peso del hueso		1	0.39*	0.50*	-0.006	0.15	0.57*	-0.02	-0.35*
Ancho del hueso			1	-0.11	0.12	0.27	0.10	-0.44*	0.19
Largo del hueso				1	-0.16	-0.001	0.46**	0.14	-0.09
Porcentaje de cenizas					1	-0.21	-0.16	-0.13	0.13
Resistencia a la fractura						1	0.49**	0.07	0.17
Páncreas							1	0.21	-0.19
Glucosa								1	-0.36**
Colesterol									1

* Asteriscos indican diferencia estadística (p<0.05)

** Asteriscos indican diferencia estadística (p<0.01)

Por otro lado, el peso del hueso presenta una relación regular con el peso del páncreas ($r = 0.57$). El peso del páncreas además de tener correlaciones buenas con el peso vivo y el peso del hueso, presenta relaciones regulares con el largo del hueso ($r = 0.46$) y la resistencia a la fractura ($r = 0.49$). Estas relaciones de regular intensidad encontradas entre el páncreas y las medidas morfométricas del hueso, así como con el peso vivo se pueden explicar por la relación entre el eje hueso-páncreas la cual explicaría que el tejido óseo pueda provocar proliferación de células β del páncreas. De tal forma, el hueso cumple una función en el metabolismo energético, participando además en el control glucémico, aumentando la expresión y secreción de insulina y adiponectina (Preciado-Estrella 2009). Por otro lado, Naot y Cornish (2014) señalan que algunas hormonas secretadas por las células β del páncreas, tales como amilina, insulina y peptina relacionadas a niveles altos de glucosa, pueden afectar a las células del hueso.

El colesterol sanguíneo presentó relaciones negativas y regulares con las medidas de la tibia de las aves. Así, la relación entre ancho del hueso con nivel de colesterol sanguíneo hallado fue -0.44 y con el peso -0.35 . Al respecto, se conocen que los esteroides sintetizados en las gónadas (estrógenos y andrógenos) son importantes para mantener la homeostasis del esqueleto mediante la regulación de eventos proliferativos y de reabsorción tales como la mineralización (Rath *et al.* 2006). Rath *et al.* (1996) encontraron que el estradiol, una hormona derivada del colesterol, reduce el peso de la tibia. Por otro lado, el rápido remodelamiento del hueso está asociado con un incremento en el riesgo de fracturas (Rath *et al.* 2000). No obstante, es probable que los efectos de hormonas que derivan del colesterol sobre los huesos, dependan del estado de maduración del esqueleto (Rath *et al.* 1996) siendo diferente en el caso de pollos de 21 días de edad con respecto a otras edades. Por otro lado, a nivel molecular, el descubrimiento de la osteocalcina, permite reconocer que el esqueleto es un órgano endocrino que regula el metabolismo energético (Pi y Quarles 2013). Ello implicaría, que no serían necesariamente las hormonas actúan en el proceso de remodelado del hueso, sino también que es el mismo hueso el que generaría un incremento en niveles de hormonas de tipo esteroideo derivadas del colesterol. Además, se conoce mediante estudios realizados en humanos que la hipercolesterolemia está asociada con baja densidad mineral (Makovey *et al.* 2009). Nava-Gonzales *et al.* (2015) se encontraron que mujeres con una mayor cantidad de masa grasa presentan efectos dañinos en el recambio óseo mineral.

El nivel de glucosa presentó una correlación regular de sentido negativo con el ancho de hueso ($r = -0.44$) y una relación inversa baja con el nivel de colesterol ($r = -0.36$). La relación inversa entre los niveles de glucosa y el ancho del hueso, estarían explicadas a través de los mecanismos hormonales que señalan autores tales como Naot y Cornish (2014) donde a niveles incrementados de glucosa se liberan hormonas y citocinas pancreáticas que se relacionan al recambio óseo. El estrés por el sacrificio puede haber influido en la asociación encontrada entre glucosa y colesterol debido a que los animales ayunaron por 6 horas. Un estudio realizado por Murray y Rosenberg (1953) citado por Ali *et al.* (2008) revelaron que la concentración de glucosa en plasma de los pollos en ayunas disminuye rápidamente hasta alcanzar un equilibrio y estabilizarse después de 3 horas de ayuno durante 16 horas. Por otro lado, Shim *et al.* (2006) establecieron que el estrés de calor produce una reducción en el nivel de lípido total y en triglicéridos, pero también incrementan los niveles de colesterol total en el hígado de broilers. Por otro lado, en discordancia a lo anterior, en pollos que presentan resistencia a la insulina se puede colegir que cuando la sensibilidad a la insulina se reduce, el efecto inhibitor normal de la insulina sobre la liberación de ácidos grasos a partir de adipocitos y la síntesis de lípidos disminuye mientras que la síntesis de triglicéridos hepáticos y su secreción se incrementan (Pagidipati *et al.* 2016).

4.8 RESISTENCIA A LA FRACTURA Y PORCENTAJE DE CENIZAS EN LA TIBIA.

El Cuadro 10 muestra el efecto de los diferentes niveles de goma de tara sobre el porcentaje de cenizas y la resistencia de la tibia (Anexos XII y XIII). No se encontraron diferencias estadísticas para ambas variables. El promedio de resistencia a la fractura fue de 23.76 kgf, similar al encontrado por Yupanqui (2017). El promedio del porcentaje de cenizas fue de 63.46%. De acuerdo a Rath *et al.* (2010), entre todos los factores que influyen en la resistencia del hueso, el rol de los factores nutricionales es el más relevante. Además del calcio, el fósforo y las vitaminas; los prebióticos también pueden presentar efectos sobre la resistencia del hueso. Así por ejemplo, Weaver *et al.* (2010), señalan que existen algunas fibras de tipo soluble influyen en la fortaleza del hueso.

Cuadro 10: Efecto de diferentes niveles de goma de tara sobre el porcentaje de cenizas y la resistencia de la tibia (período de 1 a 21 días de edad).

Medidas	T1 ¹	T2	T3	T4	T5
Resistencia, kgf	24.98 ^a ± 7.10	24.54 ^a ± 7.40	25.79 ^a ± 2.60	19.90 ^a ± 4.40	24.37 ^a ± 3.20
Cenizas, %	62.88 ^a ± 3.82	62.74 ^a ± 2.25	63.08 ^a ± 1.08	63.99 ^a ± 1.80	64.79 ^a ± 1.69

¹ T1: dieta basal sin goma de tara (control), T2: dieta basal con goma de tara (0.05%), T3: dieta basal con goma de tara (0.10%), T4: dieta basal con goma de tara (0.15%), T5: dieta basal con goma de tara (0.20%).

² Valores son el promedio y desviación estándar de cuatro repeticiones (dos aves por repetición) por tratamiento.

^{a,b,c} Superíndices iguales dentro de filas indican que no hay diferencia estadística (p>0.05)

De acuerdo a su estudio realizado con huesos del fémur en ratas de 4 semanas de edad, la fuerza requerida para romper los huesos se incrementó en un 8% con respecto al tratamiento control, al usar fibra dextrina soluble o fibra soluble de maíz. Resultados similares a los del presente experimento fueron encontrados por Rodrigues *et al.* (2012) en ratas, quienes tampoco encontraron diferencias estadísticas en la resistencia de la tibia a la fractura entre tratamientos al usar harina de yacón; sin embargo, se observó un incremento en la resistencia a la fractura (8.1%) con respecto al tratamiento control. Al respecto, el yacón es considerado un prebiótico, similar a la goma de tara por su alto contenido de inulina. Cabe señalar que el mismo trabajo se encontró diferencia estadística favorable al contenido de calcio en los huesos, a pesar que las medidas morfométricas se mantuvieron sin diferencia. La resistencia a la rotura del hueso está relacionada con su contenido mineral (Albright 1987) y a su más abundante matriz extracelular de colágeno proteico, que proporciona un andamiaje estructural (Nigg y Grimston 1994). De acuerdo a esto, factores distintos al aumento del contenido mineral (calcio, fósforo, etc) podrían contribuir al aumento de la fuerza de los huesos. De esta manera, el entrecruzamiento intermolecular de colágeno es responsable de la resistencia del hueso a la tracción y de sus propiedades de tensión (Frost 1994) y pueden proporcionar refuerzo fibrilar causando un aumento en la resistencia del hueso.

V. CONCLUSIONES

Bajo las condiciones del presente estudio se concluye:

1. La goma de tara no tuvo influencia significativa sobre la conversión, o consumo de alimento; sin embargo, su adición en niveles superiores a 0.10% tiene efecto negativo en el peso vivo y la ganancia de peso.
2. La profundidad de cripta y relación altura:profundidad de cripta, fueron influenciadas significativamente por la dieta con goma de tara al 0.10% (T3)
3. Los niveles de goma de tara no tuvieron influencia sobre la morfometría ósea de la tibia, ni en los niveles de glucosa y colesterol.
4. Las correlaciones entre el peso de las vísceras, las medidas morfométricas del hueso y las medidas morfométricas intestinales fueron altas para el peso vivo con el peso, largo y ancho del hueso; medias para el peso vivo con el peso del páncreas; bajas para la relación profundidad de cripta y el peso vivo y bajas para el nivel de colesterol y peso del hueso.

VI RECOMENDACIONES

Bajo las condiciones del presente estudio se concluye:

1. Utilizar goma de tara a nivel de 0.10 % para mantener la salud intestinal de pollos de carne.
2. Evaluar el efecto del nivel de goma de tara (0.10 %) sobre la morfometría intestinal y ósea en condiciones de desafío bacteriano.
3. Validar las relaciones encontradas entre la profundidad de cripta con la morfometría ósea y el peso vivo; así como la relación entre peso del páncreas y morfometría ósea.

VII REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ali, S., Kang, G-H., Joo, S.T. 2008. A Review: Influences of pre-slaughter stress on poultry meat quality. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* 21(6):912-916.
- Aliya, I.S., Norhazilah, M., Faruk, R.M., Amanov, M., Mariam, I.U., Zainab, M., Gotam, K., Nordin, S., Atif, A.B. 2015. Bone health in metabolic endotoxemia related obesity. *Interdisciplinary Journal of microinflammation.* 3. doi:10.4172/ijm.1000129.
- Al-Kassie, G.A.M., Al-Jumaa, Y.M.F., Jameel, Y.J. 2008. Effect of probiotic (*Aspergillus niger*) and prebiotic (*Taraxacum officinale*) on blood picture and biochemical properties of broiler chicks. *International Journal of Poultry Science.* 7(12):1182-1184.
- Almeida Paz, I.C.L., Mendes, A.A., Balog, A., Vulcano, L.C., Ballarin, A.W., Almeida, I.C.L.O., Takahashi, S.E., Komiyama, C.M., Silva, M.C., Cardoso, K.F.G. 2008. Study on the bone mineral density of broiler suffering femoral joint degenerative lesions. *Brazilian J. of Poultry Science.* 10(2):103-108.
- Angel, R., Saylor, W.W., Mitchell, A.D., Powers, W., Applegate, T.J. 2006. Effect of dietary phosphorus, phytase, and 25-hydroxycholecalciferol on broiler chicken bone mineralization, litter phosphorus, and processing yields. *Poult. Sci* 85: 1200-1211. doi: 10.1093/ps/85.7.1200
- Angel, R., Dalloul, R.A., Doerr, J., 2005. Performance of broiler chickens fed diets supplemented with a direct fed microbial. *Poult. Sci.* 84: 1222–1231.
- Anita, F.P., Abraham, P. 1997. *Clinical dietetics and nutrition.* Delhi Oxford University Press, Calcutta, pp 73–77
- Anonymous. 1999. How do mannanoligosaccharides work? *Feed. Times* 1:7–9.

- Anonymous. 2001. The definition of dietary fibre. *Cereal Foods World* 46, 112–126.
- A.O.A.C. 2005. Official Methods of Analysis of AOAC International (OMA). AOAC International, Gaithersburg, MD.
- Ao, Z., Choct, M., Kocher, A. 2008. Effects of dietary additives and early feeding on the performance, gut development and immune status of broiler chickens challenged with *Clostridium perfringens*. *Brit. Poult. Sci.* (submitted).
- Applegate, T.J., Lilburn, M.S. 2002. Growth of the femur and tibia of a commercial broilerline. *Poult. Sci.* 81: 1289-1294. doi:https://doi.org/10.1093/ps/81.9.1289
- Awad, WA., Ghareeb, K., Abdel-Raheem, S., Böhm J. 2009. Effects of dietary inclusion of probiotic and symbiotic on growth performance, organ weights, and intestinal histomorphology of broiler chickens. *Poult. Sci.* 88:49–55 doi:10.3382/ps.2008-00244
- Babu U.S., Sommers, K., Harrison, L.M., Balan, K.B. 2012. Effects of fructooligosaccharide-inulin on Salmonella-killing and inflammatory gene expression in chicken macrophages. *Vet Immunol Immunop.* 149:92–96.
- Badia, R., Brufau, M.T., Guerrero-Zamora, A.M., Lizardo, R., Dobrescu, I., Martin-Venegas, R., Ferrer, R., Salmon, H., Martínez, P., Brufau, J. 2012. β -Galactomannan and *Saccharomyces cerevisiae* var. *bouardii* modulate the immune response against *Salmonella enterica* serovar Typhimurium in porcine intestinal epithelial and dendritic cells. *Clin Vaccine Immunol.* 19(3):368-376. doi: 10.1128/CVI.05532-11
- Batista De Oliveira, P., Murakami, A.E., De Moraes García, E.R., Macari, M., Scapinello, C. 2000. Influence of antinutritional factors of *Leucaena* (*Leucaena leucocephala* and *Leucaena cunningan*) and Pigeous Bean (*Cajanus cajan*) on the intestinal epithelium and performance of broiler chickens. *Rev. Bras. Zootec.* 29: 1759-1769.

- Baumel, J.J., Witmer, L.M., King, A.S., Breazile, J.E., Evans, H.E., Vanden Berge, J.C. 1993. Handbook of Avian Anatomy: Nomina anatomica avium. Second Edition. Publication N° 23 of the Nuttall Ornithological Club, Museum of Comparative Zoology, Harvard University, Massachusetts, USA.
- Bedford, M.R. 1996. Interaction between ingested feed and the digestive system in poultry. *Journal of Applied Poultry Research*. 5: 86–95
- Biggs, P., Parsons, C.M., Fahey, G.C. 2007. The effects of several oligosaccharides on growth performance, nutrient digestibilities, and cecal microbial populations in young chicks. *Poult. Sci.* 86: 2327–2336
- Bolvin, G., Meunier, P.J. 2002. The degree of mineralization of bone tissue measured by computerized quantitative contact microradiography. *Calcif. Tissue Int.* 70:503:511
- Bowes, V.A., Julian, R.J. 1988. Organ weights of normal broiler chickens and those dying of sudden death syndrome. *Can. Vet. J.* 29:153-156.
- Bronner, F. 1987. Intestinal calcium absorption: mechanisms and applications. *J. Nutr.* 117: 1347-135.
- Brown, L., Rosner, B., Willett, W.W., Sacks, F.M. 1999. Cholesterol-lowering effects of dietary fiber: a meta-analysis. *Am. J. Clin. Nutr.* 69: 30–42
- Brufau, M.T., Martín-Venegas, R., Guerrero-Zamora, A.M., Pérez-Vendrell, A.M., Vilà, B., Brufau, J., Ferrer, R. 2015. Dietary β -galactomananos have beneficial effects on the intestinal morphology of chickens challenged with *Salmonella enterica serovar enteritidis*. *J. Anima. Sci.* 93:238-246.
- Buckner, G.D., Insko JR, W.M., Harms-Henry, A., Faull-Wachs, E. 1950. The comparative rates of growth and calcification of the femur, tibia and metatarsus bones of the male and female New Hampshire chicken having straight keel. *Poult. Sci.* 29: 332-335. doi: <https://doi.org/10.3382/ps.0290332>

- Casas, G.A., Afanador, G., Rodríguez, D. 2009. Componentes anatómicos y coeficientes alométricos en cerdos machos castrados desde el nacimiento. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*. 22 (2):156-167.
- Cashman, K. 2003. Prebiotics and calcium bioavailability. *Curr. Issues intest. Microbiol.* 4: 21-32.
- Calzada, J. 1982. *Métodos estadísticos para la investigación*. Lima: Ed Jurídica. 644 pp.
- Cámara-Martos, F., Amaro-López, M.A. 2002. Influence of dietary factors on calcium bioavailability. A brief review. *Biological Trace Element Research*. 89: 43-52.
- Capen, C.C., O'Brien, E., O'Brien, T. 2004. *Fisiopatología de la homeostasis endocrina* En: Dunlop, R.H., Malbert, C.H. 2004. *Fisiopatología Veterinaria* (425:446). Zaragoza. España. Editorial Acribia.
- Caricilli, A.M., Saad, M.J.A. 2014. Gut microbiota composition and its effects on obesity and insulin resistance. *Curr. Opin Clin Nutr Metab Care*. 17:312-318.
- Carlson, J., Hospattankar, A., Deng, P., Swanson, K., Slavin, J. 2015. Prebiotic effects and fermentation kinetics of wheat dextrin and partially hydrolyzed guar gum in an in vitro batch fermentation system. *Foods*. 4: 349- 358.
- Carre, B., Flores, M.P., Gomez, J. 1995. Effects of pelleting, lactose level, polyethylene glycol 4000, and guar gum compared to pectin on growth performances, energy values and losses of lactose, lactic acid, and water in chickens. *Poult. Sci*. 74:1810-1819.
- Cheng, H., Leblond, C.P. 1974. Origin, differentiation and renewal of the four main epithelial cell types in the mouse small intestine. I: columnar cell. *American Journal of Anatomy* 141, 461-479.
- Cheng, Y., Prud'Homme. 2000. Enzymatic degradation of guar and substituted guar galactomannans. *Biomacromolecules*. 1: 782-788.
- Choct, M. 2009. Managing gut health through nutrition. *Brit. Poult. Sci*. 50:9-15. doi:10-

1080/00071660802538632

- Chonan, O., Matsumoto, K., Watanuki, M. 1995. Effect of galactooligosaccharides on calcium absorption and preventing bone loss in ovariectomized rats. *Biosci. Biotechnol. Biochem*, 59: 236-239.
- Cobb-Vantress. 2002. Cobb 500 Broiler Performance and Nutrition Supplement. [Internet]. Available in: http://www.cobb-vantress.com/docs/default-source/cobb-500-guides/Cobb500_Broiler_Performance_And_Nutrition_Supplement.pdf
- Cook, R.H., Bird, F.H. 1973. Duodenal villus area and epithelial cellular migration in conventional and germ-free chicks. *Poult. Sci.* 52: 2276–2280.
- Cook, M.E. 2000. Skeletal deformities and their causes. Introduction. *Poult. Scie.* 79:982-984.
- Coudray, C., Bellanger, J., Castiglia-Delavaud, C., Rémésy, C., Vermorel, M., Rayssiguier, Y. 1997. Effect of soluble or partly soluble dietary fibres supplementation on absorption and balance of calcium, magnesium, iron and zinc in healthy young men. *European Journal of Clinical Nutrition*, 52: 375-380.
- Dhingra, D., Michael M., Rajput, M., Patil, R.T. 2012. Dietary fibre in foods: a review. *J Food Sci Technol.* 49(3):255–266
- Duncan, D.B. 1955. Multiple range a multiple F test. *Biometrics* 1: 1-42.
- Dreher, M.L. 2018. *Dietary Fiber in Health and Disease*. Human Press. 409 pp.
- Emiola, I.A., Ologhobo, A.D., Gous, R.M. 2007. Performance and histological responses of internal organs of broiler chickens fed raw, dehulled, and aqueous and dry-heated kidney bean meals. *Poultry Science* 86:1234–1240.
- 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 para optar el título de Ingeniero Zootecnista. Universidad Nacional Agraria La Molina.

- Escudero, E., Gonzales, P. 2006. La fibra dietética. *Nutrición Hospitalaria*. 21: 61-72
- Evans, A.J., Hood, R.L., Oakenfull, D.G., Sidhu, G.S. 1992. Relationship between structure and function of dietary fibre: a comparative study of the effects of three galactomannans on cholesterol metabolism in the rat. *British Journal of Nutrition*. 68: 217-229.
- Fan, Y., Croom, J., Christensen, V., Black, B., Bird, A., Daniel, L., McBride, B., Eisen, E. 1997. Jejunal glucose uptake and oxygen consumption in turkey poult selected for rapid growth. *Poult. Sci.* 76:1738– 1745
- Fernandez, M.L., Sun, D-M., Tosca, T., McNamara, D.J. 1995. Guar gum effects on plasma low-density lipoprotein and hepatic cholesterol metabolism in guinea pigs fed low- and high-cholesterol diets: a dose-response study. *Am J Clin Nutr.* 61: 127-134.
- Forstner, J.F., Forstner, G.G. 1994. Gastrointestinal Mucus. In: Johnson, L.R. (ed.) *Physiology of the Gastrointestinal Tract*, 3rd edn. Raven Press, New York, pp. 1255–1284.
- Forstner, J.F., Oliver, M.G., Sylvester, F.A. 1995. Production, structure and biologic relevance of gastrointestinal mucins. In: Blaser, M.J., Smith, P.D., Ravdin, J.I., Greenberg, H.B. and Guerrant, R.L. (eds) *Infections of the Gastrointestinal Tract*, Raven Press, New York, pp. 7– 88.
- Fullmer, C.S 1992. Intestinal calcium absorption: calcium entry. *J. Nutr.* 122:644:650.
- Geyra, A., Uni, Z., Sklan, D. 2001b. Enterocyte dynamics and mucosal development in the posthatch chick. *Poult. Sci.* 80: 776–782.
- Gibson, G.R., Rastall, R.A. 2006. *Prebiotics: Development and Application*. Wiley, Chichester, UK.

- Gibson, G.R., Roberfroid, M.B. 1995. Dietary modulation of the human colonic microflora introducing the concept of probiotics. *Journal of Nutrition* 125: 1401-1412.
- Gibson, G.R., Scott, K.P., Rastall, R.A., Tuohy, K.M., Hotchkiss, A., Dubert-Ferrandon, A., Gareau, M., Murphy, E.F., Saulnier, D., Loh, G., Macfarlane, S., Delzenne, N., Ringel, Y., Kozianowski, G., Dickmann, R., Lenoir-Wijnkoop, I., Walker, C., Buddingto, R. 2010. Dietary prebiotics: current status and new definition. *Food Science and Technology Bulletin: Functional Foods* 7 (1) 1–19. doi: 10.1616/1476-2137.15880.
- Gibson, G.R., Probert, H.M., Van Loo, J.A.E., Rastall, R.A. Roberfroid, M.B. 2004. Dietary modulation of the human colonic microbiota: updating the concept of prebiotics. *Nutrition Research Reviews* 17: 259-275.
- González-Rozas, M., Pérez, J.L. 2014. Endocrine regulation of energy metabolism by bone. *Rev Osteoporos Metab Miner.* 6;2:57-62.
- Guillon, F., Champ, M. 2000. Structural and physical properties of dietary fibres, and consequences of processing on human physiology. *Food Res Int* 33:233–245
- Ha, M-A., Jarvis, M.C., Mann, J.I. 2000. A definition for dietary fibre. *European Journal of Clinical Nutrition.* 54: 861-864.
- Hall, L.E., Shirley, R.B., Bakalli, R.I., Aggrey, S.E., Pesti, G.M., Edwards, H.M. 2003. Power of two methods for the estimation of bone ash of broilers. *Poult Sci.* 82:414-418.
- Hester, P.Y. 1994. The role of environment and management on leg abnormalities in meat-type fowl. *Poult. Sci.* 61: 73:904-915.
- Houshmand, M., Azhar, K., Zulkifli, I., Bejo, M.H., Meimandipour, A., Kamyab, A. 2010. Effects of non-antibiotic feed additives on performance, tibial dyschondroplasia incidence and tibia characteristics of broilers fed low-calcium diets. *Journal of Anima Physiology and Animal Nutrition.* 95: 351-

- Ide, T., Moriuchi, H., Nishimoto, K. 1991. Hypolipidemic effects of guar gum and its enzyme hydrolysate in rats fed highly saturated fat diets. *Ann. Nutr. Metab.* 5: 34-44.
- Imondi, A.R., Bird, F.H. 1966. The turnover of intestinal epithelium in the chick. *Poult. Sci.* 45:142–147.
- Ishihara, N., Chu, D.C., Akachi, S., Juneja, L.R. 2000. Preventive effect of partially hydrolyzed guar gum on infection of *Salmonella enteritidis* in young and laying hens. *Poult. Sci.* 79: 689-697.
- Janardhana, V., Broadway, M.M., Bruce, M.P., Lowenthal, J.W., Geier, M.S., Hughes, R.J., Bean, A.G.D. 2009. Prebiotics modulate immune response in the gut-associated lymphoid tissue of chickens. *The Journal of Nutrition.* 139: 1401-1409.
- Jenkins, D.J.A., Wolever, T.M.S, Leeds, A.R., Gassull, M.A., Haisman, P., Dilawari, J., Goff, D.V., Meta, G.L., Albert, K.G.M.M. 1978. Dietary fibres, fibre analogues and glucose tolerance: importance of viscosity. *Br. Med. J.* 1:1392–1394
- Kalavathy, R., Abdullah, N., Jalaludin, S., Ho, Y.W. 2003. Effects of *Lactobacillus* cultures on growth performance, abdominal fat deposition, serum lipids and weight of organs of broiler chickens. *Brit. Poult. Sci.* 44:1, 139-144. doi: 10.1080/0007166031000085445
- Kay, R.M. 1982. Dietary fibre. *J. Lipid. Res.* 23:221–242
- Kocabagli, N. 2001. The effect of dietary phytase supplementation at different levels on tibial bone characteristics and strength in broilers. *Turk. J. Vet. Anim. Sci.* 25: 797-802.
- Kolakshyapati, M., Flavel, R.J., Sibanda, T Z., Schneider, D., Welch, M.C., Ruhnke, I. 2019. Various bone parameters are positively correlated with hen body

weight while range access has no beneficial effect on tibia health of free-range layers. *Poult. Sci.* 98(12), 6241-6250.

Leach, R.M., Nesheim, M.C. 1965. Nutritional genetic and morphological studies of an abnormal cartilage formation in young chicks. *J. Nutr.* 86:236–244.

Leach, R.M., Lilburn, M.S. 1992. Current knowledge on the etiology of tibial dyschondroplasia in the avian species. *Poult Sci* 4: 57-65.

Loddi, M.M., Moraes, V.M., Nakaghi, L.S.O., Tucci, F.M., Hannas, M.I., Ariki, J.A. 2004. Mannan oligosaccharide and organic acids on performance and intestinal morphometric characteristics of broiler chickens. *Proceeding of the 20th Annual Symposium Suppl. 1: 45.*

Maisonnier, S., Gómez, J., Brée, A., Berri, C., Baéza, E., Carré, B. 2003. Effects of microflora status, dietary bile salts, and histomorphology in broiler chickens. *Poult. Sci.* 82:805-814.

Makovey, J., Chen, J.S., Hayward, C., William, F.M., Sambrook, P.N. 2009. Association between serum cholesterol and bone mineral density. *Bone.* 44(2): 208-13.

Mani, V. 2012. Understanding intestinal lipopolysaccharide permeability and associated inflammation. *Graduate Theses and Dissertations.* 12788. Iowa State University. Digital Repository. Disponible en <https://lib.dr.iastate.edu/etd/12788>

Martínez, D.A. 2012. Evaluación de un producto a base de aceite esencial de orégano sobre la integridad intestinal, la capacidad de absorción de nutrientes y el comportamiento productivo de pollos de carne. Tesis de Magíster. Lima: Universidad Nacional Agraria La Molina. 368 pp.

Mateos, G., Jiménez-Moreno, E., Serrano, M., Lázaro, R. 2012. Poultry response to high levels of dietary fiber sources varying in physical and chemical characteristics. *The Journal of Applied Poultry Research.* 1(21): 156–174. <https://doi.org/10.3382/japr.2011-00477>

- Mathur, N.K. 2012. Industrial galactomannan polysaccharides. C.R.C Press Taylor & Francis Group. 187 pp
- McCabe, L., Britton, R.A., Parameswaran, N. 2015. Prebiotic and Probiotic Regulation of Bone Health: Role of the Intestine and its Microbiome. *Curr Osteoporos Rep.* 13(6): 363–371. doi:10.1007/s11914-015-0292-x
- McCabe, L.R., Parameswaran, N. 2017. Understanding the Gut-Bone Signaling Axis. Mechanisms and Therapeutic Implications. Springer; 1st ed.
- Meluzzi, A., Primiceri, G., Giordani, R., Fabris, G. 1992. Determination of blood constituent's reference values in broilers. *Poult. Sci.* 71:337-345.
- Mendes, A.A., Almeida Paz, I.C.L., Vulcano, L.C., Takahashi, S.E., García, R.G., Komiyama, C.M., Balog, A. 2006. Bone mineral density and bone quality characteristics of broiler breeders. Proceedings of the XII European Poultry Conference, Verona, Italy. Consultado 16 Set. 2012. Disponible en:<http://www.cabi.org/animalscience/Uploads/File/AnimalScience/additionalFiles/WPSAVerona/10063.pdf>
- Michard, J. 2011. Dietary fiber, the forgotten nutrient. *Hubbard Technical Bulletin*. Retrieved 24th. Disponible en: https://www.hubbardbreeders.com/media/dietary_fibre_the_forgotten_nutrient_041329800_1521_26062017.pdf
- Mireles, A.J., Kim, S.M., Klasing, K.C. 2005. An acute inflammatory response alters bone homeostasis, body composition, and the humoral immune response of broiler chickens. *Poult. Sci.* 84:55-560.
- Montagne, L., Pluske, J.R., Hampson, D.J. 2003. A review of interactions between dietary fibre and the intestinal mucosa, and their consequences on digestive health in young non-ruminant animals. *Animal Feed Science and Technology.* 108: 95-117.
- Monteagudo, M.D., Hernández, E.R., Seco, C., González-Rioja, J., Revilla, M., Villa, L.F.,

- Rico, H. 1997. Comparison of the bone robusticity index and bone weight/bone length index with the results of the bone densitometry and bone histomorphometry in experimental studies. *Acta. Anat. (Basel)*. 160: 195-199.
- Monteagudo-Mera, A., Rastall, R.A., Gibson, G.R., Charalampopoulos, D., Chatzifragkou, A. 2019. Adhesion mechanisms mediated by probiotics and prebiotics and their potential impact on human health. *Applied microbiology and biotechnology*, 103(16), 6463- 6472.
- Moraes, E.R. 2006. Influência dos lipídios da ração sobre o desenvolvimento ósseo e sua composição lipídica em frangos de corte. Tesis para el título de Doutor em Zootecnia, Universidad Estadual de Maringá. Paraná, Brasil.
- Mortensen, A., Aguilar, F., Crebelli, R., DI Domenico, A., Frutos, MJ., Galtier, P., GOTT, D., Gundert-Remy, U., Lambre, C., Leblanc, J.C., Lindtner, O., Moldeus, P., Mosesso, P., Oskarsson, A., Parent-Massin, D., Stankovic, I., Waalkens-Berendsen, I., Woutersen, R.A., Wright, M., Younes, M., Brimer, L., Christodoulidou, A., Lodi, F., Tard, A., Dusemund, B. 2017. Re-evaluation of tara gum (E417) as a food additive. *EFSA Journal*. 15(6):4863.
- Nava-González, E.J., Cerda-Flores, R.M., García-Hernández, P.A., Jasso-De La Peña, G.A., Bastarrachea, R.A., Gallegos-Cabriales, E.C. 2015. Densidad mineral ósea y su asociación con la composición corporal y biomarcadores metabólicos del eje insulino-glucosa, hueso y tejido adiposo en mujeres. *Gac Med Mex*. 151:731-40.
- Naot, D., Cornisg, J. 2014. Cytokines and hormones that contribute to the positive association between fat and bone. *Frontiers in endocrinology*. 5: 70.
- Ohta, A., Motohashi, Y., Ohtsuki, M., Hirayama, M., Adachi, T., Sakuma, K. 1998. Dietary fructooligosaccharides change the intestinal mucosal concentration of calbindin D9k in rats. *J. Nutr*. 128: 934-939.
- Onyango, E.M., Hester, P.Y., Stroshine, R., Adeola, O. 2003. Bone densitometry as an

indicator of percentage tibia ash in broiler chicks fed varying dietary calcium and phosphorus levels. *Poult. Sci.* 82:1787–1791

Okubo, T., Ishihara, N., Takahashi, H., Fujisawa, T., Kim, M., Yamamoto, T., Mitsouka, T. 1994. Effects of partially hydrolyzed guar gum intake on human intestinal microflora and its metabolism. *Biosci. Biotech. Biochem.* 58:1364-1369.

Orban, J.I., Roland, D.A.SR., Bryant, M.M., Williams, J.C. 1993. Factors influencing bone mineral content, density, breaking strength, and ash as response criteria for assessing bone quality in chickens. *Poult. Sci.* 72:437–446.

Ortiz, D.L., Rodríguez, M.L., Alzueta, C., Rebolé, A., Treviño, J. 2009. Effect of inulin on growth performance, intestinal tract sizes, mineral retention and tibial bone mineralization in broiler chickens. *Brit. Poult. Sci.* 50(3):325-332.

Oury, F., Ferron, M., Huizhen, W., Confavreux, C., Xu, L., Lacombe, J., Srinivas, P., Chamouni, A., Lugani, F., Lejeune, H., Kumar, T.R., Plotton, I., Karsenty, G. 2013. Osteocalcin regulates murine and human fertility through a pancreas-bone-testis axis. *The Journal of Clinical Investigation.* 123(6):2421-2433. doi:10.1172/JCI65952.

Owusu-Asiedu, A., Patience, J.F., Laarveld, B., Van Kessel, A.G., Simmins, P.H., Ziglstra, R.T. 2006. Effects of guar gum and cellulose on digesta passage rate, ileal microbial populations, energy and protein digestibility, and performance of grower pigs. *J. Anim. Sci.* 84:843-852.

Oyofu, B.A., Droleskey, R.E., Norman, J.O., Mollenhauer, H.H., Ziprin, R.L., Corrier, D.E., DeLoach, J.R. 1989. Inhibition by mannose of in vitro colonization of chicken small intestine by *Salmonella typhimurium*. *Poult. Sci.* 68:1351-1356.

Pagidipati, N.J.; Pencina, M; Sniderman, A.D. 2016. *JAMA Cardiol.* 1(2):145-146. doi:10.1001/jamacardio.2016.0183

Peceros, G., Zea, O., Vilchez, C. 2016. Efecto de dietas suplementadas con fitasa y 25-

hidroxicolecalciferol sobre el comportamiento productivo, mineralización e integridad de las tibias en pollos de carne. *Rev Inv Vet Perú.* 27(3): 495-504

Pelicano, E.R.L., Souza, P.A., Souza, H.B.A., Figueiredo, D.F., Boiago, M.M., Carvalho, S.R. Bordon, V.F. 2005. Intestinal mucosa development in broiler chickens fed natural growth promoters. *Rev. Bras. Cienc. Avíc.* 7(4): Campinas.

Pelícia, K., Mendes, A.A., Saldanha, E.S.P.B., Pizzolante, C.C., Takahashi, S.E., Moreira, J., Garcia, R.G., Quinteiro, RR., Paz, I.C.L.A., Komiyama, C.M. 2004. Use of prebiotics and probiotics of bacterial and yeast origin for free-range broiler chickens. *Rev. Bras. Cienc. Avic.* 3(6): 163-169. <http://dx.doi.org/10.1590/S1516-635X2004000300006>

Pérez-Conesa, D., López, G., Gaspar R.O.S. 2007. Effects of probiotic, prebiotic and symbiotic follow-up infant formulas on large intestine morphology and bone mineralization in rats. *J. Sci Food Agric.* 87:1059-1068. doi:10.1002/jsfa.2812

Perry, G.C. 2006. Avian gut function in health and disease. Poultry Science Symposium Series Volume Twenty-eight. CABI. 384 pp.

PI, M., Quarles, L.D. 2013. Novel bone endocrine networks integrating mineral and energy metabolism. *Curr Osteoporos Rep.* 11(4): 391–399

Piray, A.H., Kermansahi, H., Tahmasbi, A.M., Bahrapour, J. 2007. Effects of cecal cultures and aspergillus meal prebiotic (Fermacto) on growth performance and organ weights of broiler chickens. *International Journal of Poult. Sci.* 6(5): 340-344.

Potten, C. S. 1998. Stem cells in the gastrointestinal epithelium: numbers, characteristics and death. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* 353:821–830.

Preciado-Estrella, D.A. 2009. El hueso, ¿un regulador del metabolismo energético?. *Revista Médica MD.* 1(2): 9-11.

- Quarantelli, A., Cacchioli, A., Romanelli, S., Righi, F., Alpigliani, I., Gabbi, C. 2007. Effects of different levels of dietary biotin on the performance and bone structure of broilers. *Ital. J. Anim. Sci.* 6:5-17.
- Rath, N.C., Huff, W.E., Balog, J.M., Bayyari, G.R. 1996. Effect of gonadal steroids on bone and other physiological parameters of male broiler chickens. *Poult. Sci.* 75:556-562.
- Rath, N.C., Huff, R.G., Huff, E.W., Balog, M.J. 2000. Factors regulating bone maturity and strength in poultry. *Poult. Sci* 79: 1024-1032. doi: 10.1093/ps/79.7.1024.
- Rodrigues, F.C., Barbosa, A.S., Rodrigues, V.C., Fernandes, S.A., Filomeno, E.A., Toledo De Oliveira, T., Duarte, H.S., De Lucas Fortes, C.L. 2012. Yacon flour and *Bifidobacterium longum* modulate bone health in rats. *Journal of Medicinal Food.* 15 (7): 664– 670
- Rutten, M., Leterrier, C., Constantin, P., Reiter, K., Bessel, W. 2002. Bone development and activity in chickens in response to reduced weight-load on legs. *Anim. Res.* 51:327-336.
- Samanya, M., Yamauchi, K. 2002. Histological alterations of intestinal villi in chickens fed dried *Bacillus subtilis* var. natto. *Comp. Biochem. Physiol.* 133:95–104.
- Sadeghi, A.A. 2014. Bone mineralization of broiler chicks challenged with *Salmonella enteritidis* fed diet containing probiotic (*Bacillus subtilis*). *Probiotics and antimicrobial proteins.* 6 (3-4):136-40. doi: 10.1007/s12602-014-9170-6
- Sanchez-Rodriguez, E., Benavides-Reyes, C., Torres, C., Dominguez- Gasca, N., Garcia-Ruiz, A.I., Gonzalez-Lopez, S., Rodriguez-Navarro, AB. 2019. Changes with age (from 0 to 37 D) in tibiae bone mineralization, chemical composition and structural organization in broiler chickens. *Poult. Sci.* 98:5215–5225
- Savage, T.F., Zakrzewska, E.I., Andreasen, J.R.J. 1997. The effect of feeding mannan

oligosaccharide supplemented diets to poult on performance and the morphology of the small intestine. *Poult. Sci.* 76:139 (Abstract).

- Scanes, C.G. 2014. *Sturkie's Avian Physiology*. Academy Press. 6ta Edición. 1056 pp.
- Statistical Analysis System. 1999. *SAS User's Guide: Statistics*. Cary: SAS Institute. 965 pp.
- Sato, M. 1995. Comparative X-ray densitometry of bones from ovariectomized rats. *Bone*, 17(4) Supplement 157S-162S
- Sato, K., Suematsu, A., Okamoto, K., Yamaguchi, A., Morishita, Y., Kadono, Y., Tanaka, S., Kodama, T., Akira, S., Iwakura, Y., Cua, D.J., Takayanagi, H. 2006. Th17 functions as an osteoclastogenic helper T cell subset that links T cell activation and bone destruction. *J Exp Med.* 203 (12):2673–82.
- Seedor, J.G., Quarruccio, H.A., Thompson, D.D. 1991. The bisphosphonate alendronate (MK-217) inhibits bone loss due to ovariectomy in rats. *J. Bone Miner. Res.* 6:339–346.
- Shang, H.M., Hu, T.M., Lu, I.J., Wu, H.X 2017. Effects of inulin on performance, egg quality, gut microflora and serum and yolk cholesterol in laying hens. *British Poult. Sci.* 51 (6). 791-796.
- Shastak, Y., Witzig, M., Hartung, K., Bessei, W., Rodehutsord, M. 2012. Comparison and evaluation of bone measurements for the assessment of mineral phosphorus sources in broilers. *Poult. Sci.* 91:2210-2230.
- Shim, K.S., Hwang, K.T., Son, M.W., Park, G.H. 2006. Lipid metabolism and peroxidation in broiler chicks under chronic heat stress. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* 19:1206-1211.
- Sholz-Ahrens, K.E., Ade, P., Marten, B., Weber, P., Timm, W., Asil, Y., Gluer, C.C., Schrezenmeir, J. 2007. Prebiotics, probiotics, and symbiotic affect mineral absorption, bone mineral content, and bone structure. *Journal of Nutrition.* 137: 838-846.

- Scholz-Ahrens, K.E., Schrezenmeir, J. 2002. Inulin, oligofructose and mineral metabolism – Experimental data and mechanisms. *Br. J. Nutr.* 87: S179- S186
- Sisson, S., Getty, R., Grossman, J.D. 1985. Esqueleto del gallo. En: *Anatomía de los Animales Domésticos*. Salvat Editores S.A. 5ta edición 1969; 903-910.
- Sjögren, K., Engdahl, C., Henning, P., Lerner, U.H., Tremaroli, V., Lagerquist, M.K., Bäckhed F., Ohlsson, C. 2012. The gut microbiota regulates bone mass in mice. *Journal of Bone and Mineral Research.* 27(6): 1357–1367. doi:10.1002/jbmr.1588
- Smith, R.R., Ruff, M.D., Witlock, D.R. 1980. *Eimeria necatrix* in the chicken: Response of the host jejunum to infection and subsequent absorption of methionine and glucose. In *Proc. Helminthol. Soc. Wash.* 47: 235-246.
- Souza Da Silva, L.M.G. 2010. Níveis de arginina digestível para fêmeas reprodutoras de frangos de corte e sua progenie. Tesis para el Título de Doutor em Zootecnia, Universidad Estadual de Maringá. Paraná, Brasil. Consultado 27 ene. 2012. Disponible en: www.ppz.uem.br/producao.getdoc.php?id=246
- Stanczuk, J., Zdunczyk, Z., Juskiewicz, J., Jankowski, J. 2005. Indices of response of young turkeys to diets containing mannanoligosaccharide or inulin. *Veterinarija Ir Zootechnika.* 31: 98-101.
- Sullivan, T.W. 1994. Skeletal problems in poultry: Estimated annual cost and description. *Poult. Sci.* 73:879-882.
- Świątkiewicz, S., Koreleski, J., Arczewska, A. 2010. Laying performance and eggshell quality in laying hens fed diets supplemented with prebiotics and organic acids. *Czech J. Anim. Sci.* 55 (7): 294–306
- Takahashi, H., Akashi, S., Ueda, Y., Akashi, S., Kim, M., Hirano, K., Yamamoto, T. 1995. Effect of liquid diets with or without partially hydrolyzed guar gum on intestinal microbial flora and function of rats. *Nutr. Res.* 15: 527-536.

- Takahashi, H., Yang, S.I., Hayashi, C., Kim, M., Yamanaka, J., Yamamoto, T. 1993. Effect of partially hydrolyzed guar gum on fecal output in human volunteers. *Nutr. Res.* 13: 649-657.
- Takahashi, H., Wako, N., Okubo, T., Ishihara, N., Yamanaka, J. 1994a. Influence of partially hydrolyzed guar gum on constipation on woman. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.* 40: 151-159.
- Takahashi, H., Yang, S.I., Ueda, Y., Kim, M., Yamamoto, T. 1994b. Influence of intact and partially hydrolysed guar gum on iron utilization in rats fed on iron-deficient diets. *Comp. Biochem. Physiol.* 109: 75-82.
- Thorp, B.H., Waddington, D. 1997. Relationships between the bone pathologies, ash, and mineral content of long bones in 35-day old broiler chickens. *Research in Veterinary Science.* 62:67-53.
- Tsuda, K., Inden, T., Yamanaka, K., Ikeda. 1998. Effect of partially hydrolyzed guar gum on elevation of blood glucose after sugar intake in human volunteers. *Jpn. J. Diet. Fib.* 2:15-22.
- Tungland, B.C., Meyer, D. 2002. Nondigestible oligo and polysaccharides (dietary fibre): their physiology and role in human health and food. *Compr Rev Food Sci Food Saf* 1:73–92
- Uculmana, C., Martínez-Patiño, D., Zea, O., Vílchez C. 2018. Efecto de la relación calcio y fósforo sobre las características óseas, porcentaje de cenizas e integridad esquelética en pollos de carne. *Rev Inv Vet Perú.* 29(4): 1268- 1277 <http://dx.doi.org/10.15381/rivep.v29i4.15199>
- Uni, Z. 1999. Functional development of the small intestine in domestic birds: cellular and molecular aspects. *Poultry and Avian Biology Reviews.* 10: 167–179.
- Uni, Z., Noy, Y., Sklan, D. 1995. Posthatch changes in morphology and function of the small intestines in heavy- and light-strain chicks. *Poult. Sci.* 74: 1622–1629.

- Uni, Z., Platin, R. Sklan, D. 1998b. Cell proliferation in chicken intestinal epithelium occurs both in the crypt and along the villus. *Journal of Comparative Physiology (B)* 168, 24– 247.
- Van Den Heuvel, E.G., Mujis, T., Van Dokkum, W., Schaafsma, G. 1999. Lactulose stimulates calcium absorption in postmenopausal women. *J. Bone Miner. Res.* 14:1211-1216.
- Van Leeuwen, P., Mouwen, J.M.V.M., Van Der Klis, J.D., Verstegen, M.W.A. 2004. Morphology of the small intestinal mucosal surface of broilers in relation to age, diet formulation, small intestinal microflora and performance. *Brit. Poult. Sci.* 45: 41–48.
- Vargas, R.E., Naber, E.C. 1984. Relationship between dietary fiber and nutrient density and its effect on energy balance, egg yolk cholesterol and hen performance. *The Journal of Nutrition.* 114(4): 645–652. doi:10.1093/jn/114.4.645
- Verdonk, J.M.A.J., Shim, S.B., Van Leeuwen, P., Verstegen, W.A. 2005. Application of inulin-type fructans in animal feed and pet food. *British Journal of Nutrition*, 93(Suppl. 1): S125–S138
- Weaver, C.M., Martin, B.R., Story, J.A., Hutchinson, I., Sanders, L. 2010. Novel fibers increase calcium content and strength beyond efficiency of large intestine fermentation. *J. Agric Food Chem.* 58: 8952-8957.
- Wu, Y., Ding, W., Jia, L., He, Q. 2015. The rheological properties of tara gum (*Caesalpinia spinosa*). *Food Chemistry* 168: 306-371.
- Xu, Z.R., Hu, C.H., Xia, M.S., Zhan, X.A., Wang, M.Q. 2003. Effects of dietary fructooligosaccharide on digestive enzyme activities, intestinal microflora and morphology of male broilers. *Poult. Sci.* 82:1030–1036.
- Yan, F., Keen, C.A., Zhang, K.Y., Waldroup, P.W. 2005. Comparison of methods to evaluate bone mineralization. *J. Appl. Poult. Res.* 14:492–498.
- Yason, C.V., Summers, B.A., Schat, K.A. 1987. Pathogenesis of rotavirus infection in

various age groups of chickens and turkeys: Pathology. *Am. J. Vet. Res.* 6:927–938

Yilmaz-Ersan, L., Ozcan, T., Akpinar-Bayazit, A., Omak, G. 2017. Impact of some gums on the growth and activity of *Bifidobacterium Animalis* Subsp. *Lactis*. *International Journal of Food Engineering* Vol. 3, No. 1, June 2017.

Younes, H., Demigne, C., Remesy, C. 1996. Acidic fermentation in the caecum increases absorption of calcium and magnesium in the large intestine of the rat. *Br. J. Nutr.* 75: 301-314

Yupanqui, R.K. 2017. Metodologías de obtención de hueso y predicción de resistencia como indicador de integridad esquelética en pollos de carne. Tesis para obtener el título de Ingeniero Zootecnista. Universidad Nacional Agraria La Molina. Lima. Perú. 97 pp.

Yusrizal, Y., Chen, T.C. 2003. Effect of adding chicory fructans in feed on fecal and intestinal microflora and excreta volatile ammonia. *International Journal of Poultry Sci.* 2(3): 188-194.

Zhang, A.W., Lee, B.D., Lee, S.K., Lee, K.W., An, G.H., Song, K.B., Lee, C.H. 2005. Effects of yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) cell components on growth performance, meat quality, and ileal mucosa development of broiler chicks. *Poult. Sci.* 84:1015–1021.

Zhang, B., Coon, C.N. 1997. The relationship of various tibia bone measurements in hens. *Poult. Sci.* 76:1698-1701. Sedor, J.G., Quarruccio, H.A., Thompson, D.D. 1991. The bisphosphonate alendronate (MK-217) inhibits bone loss due to ovariectomy in rats. *J. Bone Miner. Res.* 6:339–346.

VIII ANEXOS

Anexo I. Parámetros productivos de los pollos a los 21 días de edad.

TRAT	REP	PESO	GP	C/A/D	Consumo	C.A	CONSUMO ACUMULADO	G.P
1	1	814.6000	767.13	45.32	9517.10	1.29	991.710	36.53
1	2	822.0890	773.99	46.84	8702.00	1.27	983.540	36.86
1	3	833.4000	785.33	45.50	9554.20	1.27	995.420	37.40
1	4	856.9400	808.84	42.03	8825.80	1.14	922.580	38.52
2	1	849.6400	800.57	46.59	9784.00	1.33	1068.400	38.12
2	2	840.4000	792.93	42.19	8241.40	1.12	885.990	37.76
2	3	800.0600	752.79	48.61	9812.20	1.41	1060.830	35.85
2	4	844.3556	796.95	53.89	10361.60	1.40	1114.613	37.95
3	1	800.7625	752.66	35.01	8638.20	1.00	751.740	35.84
3	2	855.4889	807.42	50.80	9801.40	1.31	1058.878	38.45
3	3	818.6800	770.56	44.69	9385.80	1.33	1028.580	36.69
3	4	889.8800	842.28	51.55	10824.90	1.39	1172.490	40.11
4	1	765.5800	718.76	44.31	9304.40	1.42	1020.440	34.23
4	2	786.7400	738.68	46.00	9659.40	1.36	1005.940	35.18
4	3	736.3556	688.28	44.55	8749.80	1.36	935.480	32.78
4	4	768.9200	721.40	41.82	8782.70	1.27	918.270	34.35
5	1	823.3333	775.16	45.59	9142.00	1.28	991.780	36.91
5	2	806.1400	758.09	46.08	9677.20	1.28	970.140	36.10
5	3	792.5200	744.98	45.65	9587.00	1.47	1098.700	35.48
5	4	730.0000	682.86	43.82	9201.20	1.41	960.120	32.52

Anexo II. Medidas morfométricas promedio (n=5) de las vellosidades intestinales del yeyuno

TRATAMIENTO	REPETICIÓN	ALTURA	ANCHO	ÁREA	CRIPTA	CALICIFORMES	RELACIÓN ALTURA/CRIPTA
1	1	663.02	100.96	58989.78	208.18	56.27	3.32
1	2	934.72	92.45	76351.01	160.86	54.33	6.43
1	3	909.45	103.87	81423.16	177.36	57.88	5.73
1	4	997.56	91.40	84221.70	208.00	66.59	5.11
2	1	910.43	90.32	73723.15	160.57	62.46	5.93
2	2	1072.72	80.86	82534.25	192.99	71.30	6.04
2	3	1141.31	89.92	88390.82	170.45	65.88	7.09
2	4	913.01	96.69	82379.62	199.19	62.20	5.40
3	1	1041.92	87.34	87048.61	139.47	70.70	7.93
3	2	888.39	87.93	71017.36	138.53	55.52	6.87
3	3	942.30	90.97	78363.54	172.92	61.83	6.49
3	4	1028.91	94.40	89595.59	149.87	70.76	7.59
4	1	899.68	87.05	70186.10	161.08	59.09	5.95
4	2	950.66	81.10	70015.03	162.94	63.43	6.16
4	3	902.35	98.70	90762.37	138.76	63.85	7.00
4	4	1010.48	85.67	78169.94	171.06	63.72	6.24
5	1	921.20	93.18	80180.63	150.42	67.33	6.53
5	2	1223.13	96.32	106910.88	167.42	68.48	7.53
5	3	861.36	93.41	68966.08	178.93	55.17	5.27
5	4	851.73	89.94	67634.55	146.86	58.17	6.30

Anexo III. Peso y volumen de la tibia

TRATAMIENTO	REPETICION	PESO DEL HUESO	VOLUMEN DEL HUESO
1	1	2.110	2.833
1	2	2.173	2.880
1	3	2.230	3.460
1	4	2.157	3.340
2	1	2.422	3.460
2	2	1.940	2.633
2	3	2.233	3.420
2	4	2.306	3.260
3	1	2.042	3.300
3	2	1.990	3.100
3	3	2.277	3.160
3	4	2.295	3.540
4	1	2.155	3.480
4	2	2.118	3.080
4	3	1.898	2.780
4	4	2.060	3.140
5	1	2.127	3.000
5	2	2.128	3.100
5	3	2.210	3.280
5	4	2.004	2.800

Anexo IV. Largo de la tibia

TRATAMIENTO	REPETICIÓN	LARGO DE LA TIBIA
1	1	63.872
1	2	63.534
1	3	63.805
1	4	65.025
2	1	64.790
2	2	60.860
2	3	66.070
2	4	63.216
3	1	65.378
3	2	63.853
3	3	65.656
3	4	64.950
4	1	65.084
4	2	63.460
4	3	61.304
4	4	63.210
5	1	64.513
5	2	64.258
5	3	63.836
5	4	62.560

Anexo V. Diámetro interno, diámetro externo y ancho de la tibia.

TRATAMIENTO	REPETICION	DIAMETRO INTERNO	DIAMETRO EXTERNO	ANCHO DEL HUESO
1	1	5.438	5.658	5.548
1	2	5.710	6.140	5.925
1	3	6.087	6.493	6.290
1	4	5.693	6.017	5.855
2	1	5.995	6.558	6.276
2	2	6.143	6.443	6.293
2	3	5.890	6.038	5.964
2	4	5.876	6.344	6.110
3	1	5.635	6.038	5.836
3	2	5.555	6.070	5.813
3	3	5.620	6.087	5.853
3	4	6.225	6.440	6.333
4	1	5.743	6.078	5.910
4	2	5.938	6.270	6.104
4	3	5.720	6.420	6.070
4	4	5.933	6.050	5.992
5	1	5.255	5.785	5.520
5	2	5.583	5.995	5.789
5	3	6.080	6.567	6.323
5	4	5.590	6.032	5.811

Anexo VI. Índice de Quetelet

TRATAMIENTO	REPETICIÓN	ÍNDICE DE QUETELET
1	1	0.000482
1	2	0.000516
1	3	0.000523
1	4	0.000510
2	1	0.000569
2	2	0.000482
2	3	0.000512
2	4	0.000536
3	1	0.000472
3	2	0.000529
3	3	0.000514
3	4	0.000546
4	1	0.000511
4	2	0.000489
4	3	0.000493
4	4	0.000513
5	1	0.000520
5	2	0.000526
5	3	0.000522
5	4	0.000495

Anexo VII. Índice de Seedor

TRATAMIENTO	REPETICION	INDICE DE SEEDOR
1	1	0.030876072
1	2	0.032759505
1	3	0.033398771
1	4	0.033132576
2	1	0.037767438
2	2	0.029324952
2	3	0.033836131
2	4	0.033824483
3	1	0.030899952
3	2	0.033293405
3	3	0.033744082
3	4	0.03536206
4	1	0.03319984
4	2	0.03103505
4	3	0.03014750
4	4	0.03238232
5	1	0.033562308
5	2	0.033838123
5	3	0.03325315
5	4	0.031007864

Anexo VIII. Índice de Robusticidad.

TRATAMIENTO	REPETICION	INDICE DE ROBUSTICIDAD
1	1	5.0981
1	2	4.9840
1	3	4.9215
1	4	5.0385
2	1	4.8358
2	2	5.0173
2	3	4.9972
2	4	4.9129
3	1	5.1290
3	2	4.9848
3	3	5.0419
3	4	4.9321
4	1	5.0357
4	2	4.9905
4	3	5.0016
4	4	5.0471
5	1	4.9807
5	2	4.9924
5	3	4.9698
5	4	5.0203

Anexo IX. Peso vivo, peso del páncreas, peso del ciego, peso del hueso, peso y largo del intestino.

TRATAMIENTO	REPETICION	PESO DE PANCREAS	PESO DEL CIEGO	PESO DEL INTESTINO	LARGO DEL INTESTINO	PESO VIVO	PESO DEL HUESO
T1R1	2	3.66	3.76	33.55	141.00	910.000	1.990
T1R1	4	1.87	6.28	31.00	139.00	773.400	2.050
T1R1	7	2.25	4.27	25.49	129.00	824.000	1.580
T1R1	10	3.80	7.00	38.54	168.00	989.200	2.700
T1R2	2	1.80	5.64	36.34	140.00	942.800	2.310
T1R2	5	2.01	4.78	34.69	151.00	828.800	1.880
T1R2	7	2.92	5.30	34.63	140.00	888.600	2.020
T1R2	8	2.71	6.56	37.95	128.00	905.400	2.350
T1R2	10	2.13	4.55	29.34	140.00	831.800	1.850
T1R3	2	3.46	4.74	31.45	142.00	902.400	1.920
T1R3	3	2.85	5.81	25.79	139.00	886.200	2.260
T1R3	4	3.95	4.24	37.20	151.00	934.000	2.250
T1R3	8	2.71	4.73	28.73	125.00	868.200	1.910
T1R4	2	2.43	3.84	29.62	147.00	864.800	2.140
T1R4	6	2.80	5.31	32.80	139.00	962.000	2.170
T1R4	8	2.03	3.62	30.82	137.00	887.800	2.020
T1R4	9	4.01	4.90	30.92	140.00	930.800	2.160
T2R1	1	2.92	5.35	34.00	139.00	873.000	2.720
T2R1	2	2.90	7.77	31.82	151.00	919.800	2.110
T2R1	7	2.71	6.27	31.35	141.00	930.000	2.360
T2R1	8	3.57	5.12	34.67	145.00	915.600	2.340
T2R1	9	2.94	4.68	34.25	150.00	841.200	2.040
T2R2	1	3.38	3.32	36.12	143.00	982.800	-----
T2R2	2	3.04	4.62	32.99	130.00	1010.400	-----
T2R2	3	2.07	3.56	29.45	128.00	798.600	-----

TRATAMIENTO	REPETICION	PESO DE PANCREAS	PESO DEL CIEGO	PESO DEL INTESTINO	LARGO DEL INTESTINO	PESO VIVO	PESO DEL HUESO
T2R2	4	1.75	5.38	34.21	149.00	870.600	1.830
T2R2	6	2.53	3.49	29.00	146.00	822.600	1.740
T2R3	1	2.79	4.52	32.37	134.00	904.800	2.040
T2R3	5	2.42	5.35	30.72	142.00	794.000	2.120
T2R3	7	2.38	6.18	31.00	144.00	856.400	2.660
T2R3	8	2.16	3.30	28.97	137.00	808.800	1.980
T2R3	9	2.87	3.65	27.12	142.00	915.400	2.180
T2R4	4	2.68	3.64	28.55	130.00	896.400	2.130
T2R4	5	2.97	4.23	32.03	150.00	984.000	2.030
T2R4	6	4.16	3.95	35.91	145.00	1029.200	2.510
T2R4	7	2.69	5.55	29.27	146.00	823.400	2.030
T2R4	10	2.61	5.54	29.50	145.00	822.400	1.990
T3R1	2	1.84	3.68	26.65	129.00	811.600	1.590
T3R1	5	2.23	5.11	26.22	139.50	853.000	1.920
T3R1	6	2.51	5.44	29.19	139.00	814.800	1.740
T3R1	9	2.61	4.57	25.45	138.00	833.800	2.110
T3R2	1	4.45	5.55	40.12	154.50	1013.200	2.380
T3R2	4	2.37	5.78	35.40	146.00	878.400	2.100
T3R2	5	2.65	3.79	31.64	144.00	844.600	1.830
T3R2	6	2.48	6.30	37.00	154.00	869.000	1.790
T3R2	8	2.54	4.98	33.57	144.00	918.200	2.210
T3R3	2	2.44	7.14	31.03	156.00	941.800	2.370
T3R3	5	2.49	4.16	32.65	140.00	844.800	2.000
T3R3	6	2.90	3.16	28.85	147.00	849.600	1.960
T3R3	8	2.26	6.36	37.42	167.00	1025.000	2.550

TRATAMIENTO	REPETICION	PESO DE PANCREAS	PESO DEL CIEGO	PESO DEL INTESTINO	LARGO DEL INTESTINO	PESO VIVO	PESO DEL HUESO
T3R3	10	1.92	3.93	35.29	135.00	917.000	2.210
T3R4	2	2.84	5.26	30.87	140.00	960.800	2.300
T3R4	5	3.20	6.00	39.52	151.00	933.800	2.050
T3R4	6	3.20	3.70	32.44	149.00	1019.600	2.490
T3R4	9	3.12	7.02	38.57	170.00	1018.000	2.490
T4R1	2	2.71	4.79	35.38	150.00	906.000	2.170
T4R1	3	3.00	6.04	33.00	142.00	863.6	2.260
T4R1	6	2.36	6.49	25.88	146.00	878.600	2.200
T4R1	9	2.25	5.61	31.23	143.00	767.800	2.170
T4R1	10	2.34	4.88	33.26	163.00	896.800	2.000
T4R2	1	2.76	3.29	30.66	137.00	931.000	2.000
T4R2	3	2.03	4.07	32.10	145.00	819.200	1.700
T4R2	5	1.64	4.48	2.30	116.00	820.600	1.980
T4R2	7	2.77	4.57	35.09	145.00	893.400	2.140
T4R2	9	1.83	5.81	30.03	136.00	846.600	2.050
T4R3	2	3.00	7.28	26.46	129.00	746.600	1.850
T4R3	3	2.67	4.96	23.47	139.00	787.000	1.680
T4R3	4	1.81	3.86	25.49	136.00	844.400	1.860
T4R3	6	2.09	4.69	24.27	142.00	760.600	1.800
T4R3	10	2.87	5.38	30.08	162.00	901.400	2.040
T4R4	1	2.49	6.09	27.04	129.00	792.600	1.960
T4R4	2	2.37	3.60	25.74	120.00	813.400	1.810
T4R4	3	2.56	5.48	30.30	129.00	810.600	2.010
T4R4	9	2.50	6.09	29.55	143.00	802.200	1.910
T4R4	10	2.55	6.27	29.97	145.00	903.600	2.300

TRATAMIENTO	REPETICION	PESO DE PANCREAS	PESO DEL CIEGO	PESO DEL INTESTINO	LARGO DEL INTESTINO	PESO VIVO	PESO DEL HUESO
T5R1	2	2.28	4.64	32.00	160.00	966.400	2.070
T5R1	4	2.67	4.03	37.16	136.00	922.000	2.090
T5R1	5	3.16	5.01	37.87	155.00	970.800	2.340
T5R1	9	2.25	5.00	27.64	147.00	832.600	1.710
T5R1	10	2.12	3.44	31.37	146.00	808.000	1.800
T5R2	2	2.56	4.10	29.62	146.00	869.000	2.050
T5R2	5	1.66	3.69	27.55	155.00	834.200	2.380
T5R2	7	2.11	3.41	29.81	147.00	866.200	1.960
T5R2	10	2.39	4.86	36.91	160.00	848.600	1.760
T5R3	2	2.88	5.09	29.93	147.00	958.600	2.160
T5R3	3	3.04	3.74	29.43	132.00	936.800	2.050
T5R3	4	2.71	4.44	33.20	144.00	941.800	2.320
T5R3	6	2.92	4.48	24.11	136.00	789.000	1.980
T5R3	9	1.47	4.03	24.55	135.00	796.600	2.100
T5R4	1	2.10	4.84	22.42	131.00	746.600	1.760
T5R4	5	2.26	3.44	21.44	138.00	757.000	1.910
T5R4	7	2.25	8.74	37.15	159.00	874.800	1.910
T5R4	8	2.66	5.15	30.54	146.00	861.800	2.280
T5R4	9	1.92	7.09	26.20	143.00	814.200	1.850

Anexo X. Peso, largo, diámetro interno y externo, ancho del hueso y peso del páncreas.

TRATAMIENTO	NÚMERO	PESO DEL HUESO	LARGO DEL HUESO	DIÁMETRO INTERNO	DIÁMETRO EXTERNO	ANCHO DEL HUESO	PESO DE PANCREAS
T1R1	1.000	1.770	61.350	4.420	4.850	4.635	1.190
T1R1	2.000	1.990	65.850	5.780	5.980	5.880	3.660
T1R1	4.000	2.050	64.700	6.340	6.020	6.180	1.870
T1R1	7.000	1.580	58.130	5.630	5.530	5.580	2.250
T1R1	10.000	2.700	70.560	6.490	6.310	6.400	3.800
T1R2	2.000	2.310	64.780	5.760	6.370	6.065	1.800
T1R2	5.000	1.880	65.280	5.320	4.970	5.145	2.010
T1R2	7.000	2.020	64.700	5.520	5.870	5.695	2.920
T1R2	8.000	2.350	64.110	5.580	6.230	5.905	2.710
T1R2	10.000	1.850	58.800	5.090	5.260	5.175	2.130
T1R3	2.000	1.920	61.880	6.150	6.380	6.265	3.460
T1R3	3.000	2.260	65.430	5.800	6.230	6.015	2.850
T1R3	4.000	2.250	63.710	6.840	6.940	6.890	3.950
T1R3	8.000	1.910	59.150	6.320	6.380	6.350	2.710
T1R3	9.000	2.100	64.200	6.040	6.380	6.210	1.930
T1R4	1.000	2.290	67.430	5.990	6.120	6.055	2.220
T1R4	2.000	2.140	63.930	5.880	6.290	6.085	2.430
T1R4	6.000	2.170	64.300	5.890	6.350	6.120	2.800
T1R4	8.000	2.020	64.440	5.820	6.500	6.160	2.030
T1R4	9.000	2.160	65.300	5.940	6.430	6.185	4.010
T2R1	1.000	2.720	65.880	6.330	7.350	6.840	2.920
T2R1	2.000	2.110	61.610	6.660	6.850	6.755	2.900
T2R1	7.000	2.360	62.450	6.680	7.450	7.065	2.710
T2R1	8.000	2.340	66.880	5.790	6.840	6.315	3.570
T2R1	9.000	2.040	62.500	5.970	6.180	6.075	2.940

TRATAMIENTO	NÚMERO	PESO DEL HUESO	LARGO DEL HUESO	DIÁMETRO INTERNO	DIÁMETRO EXTERNO	ANCHO DEL HUESO	PESO DE PANCREAS
T2R2	4.000	1.830	61.650	5.880	6.310	6.095	1.750
T2R2	6.000	1.740	60.070	5.870	6.080	5.975	2.530
T2R3	1.000	2.040	59.810	6.350	7.070	6.710	2.790
T2R3	5.000	2.120	65.660	5.920	6.090	6.005	2.420
T2R3	7.000	2.660	65.830	6.090	6.400	6.245	2.380
T2R3	8.000	1.980	66.270	5.550	5.860	5.705	2.160
T2R3	9.000	2.180	66.520	5.990	6.430	6.210	2.870
T2R4	4.000	2.130	58.910	6.080	6.350	6.215	2.680
T2R4	5.000	2.030	62.300	5.530	5.900	5.715	2.970
T2R4	6.000	2.510	66.420	6.510	6.640	6.575	4.160
T2R4	7.000	2.030	64.350	4.830	5.610	5.220	2.690
T2R4	10.000	1.990	64.100	5.930	6.660	6.295	2.610
T3R1	2.000	1.590	57.460	5.400	5.780	5.590	1.840
T3R1	5.000	1.920	65.100	5.450	5.750	5.600	2.230
T3R1	6.000	1.740	64.120	4.950	5.760	5.355	2.510
T3R1	8.000	2.320	66.230	5.970	6.420	6.195	2.760
T3R1	9.000	2.110	66.060	5.700	6.110	5.905	2.610
T3R2	1.000	2.380	68.280	5.950	6.580	6.265	4.450
T3R2	4.000	2.100	61.900	6.090	6.460	6.275	2.370
T3R2	5.000	1.830	60.560	5.100	5.930	5.515	2.650
T3R2	6.000	1.790	61.440	5.760	6.340	6.050	2.480
T3R2	8.000	2.210	64.670	5.910	6.600	6.255	2.540
T3R3	2.000	2.370	69.070	5.820	6.050	5.935	2.440
T3R3	5.000	2.000	64.990	5.460	5.900	5.680	2.490
T3R3	6.000	1.960	63.910	5.420	5.890	5.655	2.900

TRATAMIENTO	NÚMERO	PESO DEL HUESO	LARGO DEL HUESO	DIÁMETRO INTERNO	DIÁMETRO EXTERNO	ANCHO DEL HUESO	PESO DE PANCREAS
T3R3	8.000	2.550	67.140	6.330	6.480	6.405	2.260
T3R3	10.000	2.210	63.170	5.610	6.350	5.980	1.920
T3R4	2.000	2.300	61.870	6.870	6.890	6.880	2.840
T3R4	5.000	2.050	65.310	5.700	6.010	5.855	3.200
T3R4	6.000	2.490	63.960	6.550	6.970	6.760	3.200
T3R4	9.000	2.490	66.680	5.750	6.430	6.090	3.120
T4R1	2.000	2.170	63.540	5.600	6.390	5.995	2.710
T4R1	3.000	2.260	68.750	5.350	6.010	5.680	3.000
T4R1	6.000	2.200	63.250	5.450	6.180	5.815	2.360
T4R1	9.000	2.170	65.650	5.990	6.210	6.100	2.250
T4R1	10.000	2.000	64.230	6.300	6.470	6.385	2.340
T4R2	1.000	2.000	63.100	5.750	6.290	6.020	2.760
T4R2	3.000	1.700	60.800	4.540	5.050	4.795	2.030
T4R2	5.000	1.980	58.950	6.190	6.410	6.300	1.640
T4R2	7.000	2.140	65.590	5.780	6.630	6.205	2.770
T4R2	9.000	2.050	64.350	5.940	6.420	6.180	1.830
T4R3	2.000	1.850	60.870	6.100	6.350	6.225	3.000
T4R3	3.000	1.680	64.020	4.960	5.100	5.030	2.670
T4R3	4.000	1.860	58.760	6.120	6.980	6.550	1.810
T4R3	6.000	1.800	58.970	5.240	5.780	5.510	2.090
T4R3	10.000	2.040	63.900	6.150	6.410	6.280	2.870
T4R4	1.000	1.960	61.880	5.360	5.860	5.610	2.490
T4R4	2.000	1.810	64.460	5.560	5.750	5.655	2.370
T4R4	3.000	2.010	64.590	6.190	6.380	6.285	2.560
T4R4	9.000	1.910	64.120	5.650	5.690	5.670	2.500

TRATAMIENTO	NÚMERO	PESO DEL HUESO	LARGO DEL HUESO	DIÁMETRO INTERNO	DIÁMETRO EXTERNO	ANCHO DEL HUESO	PESO DE PANCREAS
T4R4	10.000	2.300	62.250	6.550	6.460	6.505	2.550
T5R1	2.000	2.070	63.870	5.730	6.160	5.945	2.280
T5R1	4.000	2.090	63.530	4.860	5.630	5.245	2.670
T5R1	5.000	2.340	66.140	6.480	6.760	6.620	3.160
T5R1	9.000	1.710	60.230	5.200	5.880	5.540	2.250
T5R1	10.000	1.800	59.660	5.010	5.760	5.385	2.120
T5R2	2.000	2.050	63.180	5.520	6.120	5.820	2.560
T5R2	5.000	2.380	65.670	5.830	5.550	5.690	1.660
T5R2	7.000	1.960	61.150	5.830	6.240	6.035	2.110
T5R2	10.000	1.760	61.820	5.530	6.010	5.770	2.390
T5R3	2.000	2.160	65.250	5.770	6.510	6.140	2.880
T5R3	3.000	2.050	60.300	6.590	6.690	6.640	3.040
T5R3	4.000	2.320	64.300	6.610	7.090	6.850	2.710
T5R3	6.000	1.980	63.200	5.240	5.490	5.365	2.920
T5R3	9.000	2.100	66.130	5.450	5.790	5.620	1.470
T5R4	1.000	1.760	62.120	4.870	5.320	5.095	2.100
T5R4	5.000	1.910	62.930	5.450	5.730	5.590	2.260
T5R4	7.000	1.910	62.820	5.380	5.870	5.625	2.250
T5R4	8.000	2.280	64.810	6.190	6.340	6.265	2.660
T5R4	9.000	1.850	60.120	6.240	6.340	6.290	1.920

Anexo XI. Peso vivo, morfometría ósea, peso del páncreas, niveles de glucosa y colesterol.

REPETICION	CODIGO	PESO VIVO	HUESO					PANCREAS	GLUCOSA	COLESTEROL
			PESO	ANCHO	LARGO	CENIZA	RESISTENCIA			
T1R1	2	910.00	1.91	5.96	65.78	59.81	31.60	3.66	162.00	150.00
T1R1	10	989.20	3.35	6.15	71.43	62.29	13.65	3.80	145.00	131.00
T1R2	2	942.80	2.32	6.11	64.76	62.38	10.35	1.80	115.00	189.00
T1R2	8	905.40	2.35	6.12	64.07	77.48	28.35	2.71	138.00	.
T1R3	9	833.60	2.09	6.18	64.49	64.29	21.70	1.93	117.00	165.00
T1R4	6	962.00	2.16	6.06	64.23	48.69	26.35	2.80	130.00	111.00
T2R1	7	930.00	2.81	6.97	63.50	63.67	23.30	2.71	130.00	157.00
T2R1	8	915.60	2.35	6.30	67.86	60.11	33.10	3.57	129.00	155.00
T2R2	4	870.60	1.83	6.10	61.65	61.82	27.45	1.75	133.00	.
T2R3	7	856.40	2.66	6.13	67.16	62.40	13.15	2.38	148.00	143.00
T2R3	8	808.80	1.95	5.58	65.87	65.34	15.80	2.16	142.00	132.00
T2R4	4	896.40	2.14	6.74	60.02	69.51	16.05	2.68	124.00	196.00
T2R4	5	984.00	2.02	5.72	62.72	58.11	30.95	2.97	136.00	218.00
T2R4	6	1029.20	3.25	6.54	66.80	61.29	48.75	4.16	149.00	134.00
T2R4	7	823.40	2.09	5.07	64.42	65.01	19.40	2.69	153.00	155.00
T3R1	2	811.60	1.58	5.49	58.64	63.61	19.65	1.84	131.00	197.00
T3R1	9	833.80	2.14	6.23	66.22	64.60	14.95	2.61	121.00	185.00
T3R2	4	878.40	2.10	5.93	62.44	63.90	33.65	2.37	155.00	152.00
T3R3	6	849.60	1.96	5.26	63.75	62.23	21.35	2.90	127.00	191.00
T3R3	8	1025.00	2.48	6.34	67.72	60.74	23.70	2.26	137.00	180.00
T3R4	6	1019.60	2.55	6.74	64.00	60.43	44.35	3.20	119.00	196.00
T4R1	3	863.60	2.22	5.68	68.88	61.61	20.80	3.00	139.00	.
T4R1	10	896.80	1.97	5.93	63.44	61.50	20.50	2.34	183.00	156.00

REPETICION	CODIGO	PESO VIVO	HUESO					PANCREAS	GLUCOSA	COLESTEROL
			PESO	ANCHO	LARGO	CENIZA	RESISTENCIA			
T4R2	1	931.00	2.21	6.43	63.73	66.00	18.95	2.76	119.00	173.00
T4R2	3	819.20	1.92	5.18	61.34	62.36	17.05	2.03	155.00	162.00
T4R2	5	820.60	2.30	6.64	59.65	67.04	14.85	1.64	127.00	141.00
T4R2	9	846.60	2.04	6.17	64.57	63.84	10.50	1.83	132.00	174.00
T4R3	4	844.40	1.88	6.51	58.57	62.59	20.50	1.81	128.00	171.00
T4R4	10	903.60	2.30	6.75	63.30	66.68	26.35	2.55	110.00	182.00
T5R1	4	922.00	2.10	.	74.21	63.51	28.35	2.67	133.00	236.00
T5R1	5	970.80	2.48	5.61	65.30	62.18	23.90	3.16	146.00	102.00
T5R2	2	869.00	2.10	5.84	63.39	68.29	19.00	2.56	135.00	109.00
T5R2	5	834.20	2.27	5.68	65.67	63.34	23.30	1.66	133.00	155.00
T5R3	3	936.80	2.12	6.58	60.78	65.89	37.15	3.04	131.00	203.00
T5R4	9	814.20	1.83	6.40	60.72	60.75	37.30	1.92	133.00	213.00

Anexo XII.**Porcentaje de cenizas**

NÚMERO	CENIZAS	NÚMERO	CENIZAS	NÚMERO	CENIZAS	NÚMERO	CENIZAS
T1R1-1	65.6762	T2R1-9	62.8667	T3R2-8	62.2231	T4R4-1	61.2737
T1R1-2	59.8105	T2R2-1	64.6562	T3R3-10	61.7766	T4R4-10	66.6790
T1R1-4	64.6391	T2R2-2	62.3724	T3R3-2	61.9166	T4R4-2	62.2222
T1R1-6	62.3237	T2R2-3	67.1195	T3R3-5	65.3201	T4R4-3	61.5595
T1R1-7	62.9875	T2R2-4	61.8239	T3R3-6	62.2349	T4R4-9	67.7319
T1R1-10	62.2904	T2R2-6	64.8106	T3R3-8	60.7352	T5R1-10	63.4854
T1R2-2	62.3848	T2R3-1	63.2143	T3R4-2	64.7176	T5R1-2	62.3195
T1R2-5	64.8555	T2R3-5	44.0258	T3R4-3	61.5125	T5R1-4	63.5090
T1R2-7	65.8704	T2R3-7	62.4010	T3R4-5	61.9612	T5R1-5	62.1809
T1R2-8	77.4832	T2R3-8	65.3423	T3R4-6	60.4253	T5R1-9	62.5121
T1R2-10	63.5901	T2R3-9	62.1315	T3R4-9	60.9854	T5R2-2	68.2914
T1R3-2	64.0158	T2R4-10	62.1943	T4R1-10	61.5041	T5R2-5	63.3359
T1R3-3	63.8228	T2R4-4	69.5107	T4R1-3	61.6147	T5R2-7	66.3535
T1R3-4	63.0354	T2R4-5	58.1113	T4R1-6	61.7128	T5R3-2	63.0633
T1R3-8	64.9702	T2R4-6	61.2851	T4R1-9	61.3784	T5R3-3	65.8898
T1R3-9	64.2854	T2R4-7	65.0103	T4R2-1	66.0048	T5R3-4	62.0477
T1R4-2	58.6918	T3R1-2	63.6099	T4R2-3	62.3573	T5R3-6	64.6028
T1R4-4	61.1973	T3R1-5	63.1616	T4R2-5	67.0447	T5R3-9	64.2825
T1R4-6	48.6923	T3R1-6	66.6789	T4R2-7	64.2411	T5R4-1	64.1930
T1R4-8	59.8013	T3R1-8	62.1726	T4R2-9	63.8368	T5R4-5	65.6826
T1R4-9	60.1532	T3R1-9	64.5988	T4R3-10	65.9827		
T2R1-1	63.4192	T3R2-1	62.6998	T4R3-2	66.0114		

Anexo XIII. Resistencia de los huesos

NÚMERO	RESISTENCIA	NÚMERO	RESISTENCIA	NÚMERO	RESISTENCIA
T1R1-1	21.900	T2R4-7	19.400	T4R4-1	21.300
T1R1-1	31.600	T3R1-2	19.650	T4R4-2	13.000
T1R1-3	21.350	T3R1-8	31.900	T4R4-3	28.900
T1R1-4	42.750	T3R1-9	14.950	T4R4-9	11.600
T1R1-7	24.300	T3R2-2	32.450	T4R4-10	26.350
T1R1-10	13.650	T3R2-4	33.650	T5R1-4	28.350
T1R2-2	10.350	T3R2-5	19.150	T5R1-5	23.900
T1R2-7	13.150	T3R3-6	21.350	T5R1-9	23.550
T1R2-8	28.350	T3R3-8	23.700	T5R2-1	14.250
T1R3-8	46.700	T3R3-20	32.250	T5R2-2	19.000
T1R3-9	21.700	T3R4-2	31.100	T5R2-5	23.300
T1R4-2	29.300	T3R4-5	16.450	T5R2-7	26.500
T1R4-4	14.650	T3R4-6	44.350	T5R2-10	17.750
T1R4-6	26.350	T3R4-9	15.450	T5R3-3	37.150
T1R4-8	19.800	T4R1-3	20.800	T5R3-6	31.350
T2R1-1	15.100	T4R1-6	34.450	T5R3-9	14.850
T2R1-7	23.300	T4R1-9	27.300	T5R4-1	19.950
T2R1-8	33.100	T4R1-10	20.500	T5R4-5	13.400
T2R2-1	34.700	T4R2-2	18.950	T5R4-7	26.350
T2R2-4	27.450	T4R2-3	17.050	T5R4-9	37.300
T2R3-7	13.150	T4R2-5	14.850		
T2R3-8	15.800	T4R2-7	30.000		
T2R4-4	16.050	T4R2-9	10.500		
T2R4-5	30.950	T4R3-3	10.200		
T2R4-6	48.750	T4R3-4	20.500		