

ESCUELA POLITÉCNICA DEL EJÉRCITO

**DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA
CARRERA DE INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA**

“Efecto de la suplementación alimentaria con selenio orgánico, sobre la transformación de Tiroxina (t4) a Triiodotironina (t3), parámetros sanguíneos y su incidencia sobre el síndrome de ascitis, en pollos broilers machos”

PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE:

INGENIERO EN BIOTECNOLOGÍA

ELABORADO POR:

Héctor Giovanni Vergara Cedeño

DIRECTOR: DMVZ Freddy Proaño M.Sc.

CODIRECTOR: DMVZ MARCELO ALMEDIA M.SC.

SANGOLQUÍ, 2007

CERTIFICACIÓN

Certifico que el presente trabajo fue realizado en su totalidad por la Sr.
HÉCTOR GIOVANNY VERGARA CEDEÑO como requerimiento parcial a la
obtención del título de INGENIERO EN BIOTECNOLOGÍA.

Sangolquí,

Dr. Freddy Proaño

DIRECTOR

Dr. Marcelo Almeida

CODIRECTOR

REVISADO POR
(RESPONSABLE ACADÉMICO)

HOJA DE LEGALIZACIÓN DE FIRMAS

“EFECTO DE LA SUPLEMENTACIÓN ALIMENTARIA CON SELENIO ORGÁNICO, SOBRE LA TRANSFORMACIÓN DE TIROXINA (T4) A TRIIODOTIRONINA (T3) Y SU INCIDENCIA SOBRE EL SÍNDROME DE ASCITIS, EN POLLOS BROILERS MACHOS”

ELABORADO POR:

Giovanny Vergara Cedeño

**DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA
CARRERA DE INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA**

M.Sc. Mónica Jadán Guerrero
COORDINADORA DE CARRERA

Vinicio
SECRETARIO ACADÉMICO

Lugar y fecha: _____

DEDICATORIA

A Dios, el guía supremo de mi vida.

A mis padres Sara y José, por su amor, apoyo y confianza incondicional a lo largo de mi vida, por dejarme escoger mi camino, siempre cautelosos y pacientes.

A mi esposa Alejandra y mi hijo Camilo, los motivos de mi vida que con su amor, iluminan mis pensamientos.

A mis amigos.

Giovanny Vergara Cedeño

AGRADECIMIENTO

A DIOS, mi tutor principal

A MIS PADRES, por su amor, fe, confianza

A MI ESPOSA, por su amor, paciencia, por saber escucharme y entenderme.

AL DR. GERMÁN ROMO, por su apoyo incondicional en mi formación profesional.

AL DR. ANTONIO KALINOWSKI, por sus consejos y conocimientos impartidos.

A FRANCISCO VELASCO, por ser un amigo y ayudarme cuando necesitaba

A JORGE ANCHAPANTA, por ayudarme desinteresada en mi tesis

A MIS AMIGOS, que creyeron en mí, a pesar de las adversidades.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

	Pag
Resumen	1
Abstract	2
Capítulo I. Introducci—n	3
1.1. Formulaci—n del problema	3
1.2. Justificaci—n del problema	3
1.3. Objetivos	4
1.3.1. Objetivo general	4
1.3.2. Objetivos espec'ficos	4
1.4. Marco te—rico	5
1.4.1. S'ndrome de ascitis	5
1.4.2. Selenio	9
1.4.3. Hormonas tiroides	13
1.5. Hip—tesis	16
Capítulo II. Materiales y Mtodos	16
2.1. Participantes	16
2.2. Zona de estudio	16
2.2.1. Galp—n experimental	16
2.2.2. Laboratorio	17
2.3. Per'odo de investigaci—n	17
2.4. Dise—o	18
2.5. Procedimiento	19
2.5.1. Crianza y Programa de manejo	19
2.5.2. Análisis de ox'm etria y ritmo card'aco	23
2.5.3. Medici—n de hematocrito	27
2.5.4. Medici—n de la hormona tiroxina (T4)	30
2.5.5. Medici—n de la hormona triiodotironina	34
2.6. Análisis de datos	36
2.6.1. Variables de respuesta	37
2.6.2. Modelo estad'stico	37
Capítulo III. Resultados y Discusi—n	39
3.1. Peso corporal, consumo y ganacia de peso	39
3.2. Parámetros sangu'neos	44
3.2.1. Hematocrito	44
3.2.2. Saturaci—n de ox'geno	46
3.2.3. Frecuencia card'aca	46
3.2.4. Hormonas tiroideas	46
3.3. Mortalidad	50
3.3.1. Mortalidad total	50
3.3.2. Mortalidad causada por el s'ndrome de ascitis	50
Capítulo IV. Conclusiones	52
Capítulo V. Recomendaciones	53
Capítulo VI. Bibliograf'a	54

LISTADO DE TABLAS

Tabla	Descripción	Pag.
Tabla 1.	Factores y niveles del diseño experimental	18
Tabla 2.	Programa de alimentación	19
Tabla 3.	Programa de luz para crianza de pollos	20
Tabla 4.	Programa de temperatura para crianza de pollos	21
Tabla 5.	Tabla de consumos y pesos deseados	22
Tabla 6.	Variables de respuesta del experimento	37
Tabla 7.	Efecto del tipo de manejo y concentración de selenio en el peso corporal de las aves	41
Tabla 8.	Efecto del tipo de manejo y concentración de selenio en el consumo semanal de alimento por ave	42
Tabla 9.	Efecto del tipo de manejo y concentración de selenio en la ganancia de peso	43
Tabla 10.	Efecto del tipo de manejo y concentración de selenio en el porcentaje de hematocrito	45
Tabla 11.	Efecto del tipo de manejo y concentración de selenio en el porcentaje de saturación de oxígeno	47
Tabla 12.	Efecto del tipo de manejo y concentración de selenio en la frecuencia cardíaca	48
Tabla 13.	Efecto del tipo de manejo y concentración de selenio en la concentración de T4 y T3	49
Tabla 14.	Efecto del tipo de manejo y concentración de selenio en el porcentaje de mortalidad	51

LISTADO DE FIGURAS

Figura	Descripción	Pag.
Figura 1.	Pollos broiler con fluido ascítico	5
Figura 2.	Corazones de pollos broiler con hipertrofia ventricular	7
Figura 3.	Estructura química de los principales compuestos yodados de la glándula tiroidea	14
Figura 4.	Galpón experimental	17
Figura 5.	Equipo Nonin 8600V, oxímetro de pulso	24
Figura 6.	Lectura de oximetría, pollo de 1 día de edad	25
Figura 7.	Lector de barra, colocado en el ala del pollo	26
Figura 8.	Materiales para realizar prueba de hematocrito	27
Figura 9.	Microcentrífuga	28
Figura 10.	Punción de vena alar	28
Figura 11.	Capilares con sangre aviar	29
Figura 12.	Capilares centrifugados	29
Figura 13.	Muestra de suero en placa Elisa	32
Figura 14.	Muestra de suero en placa Elisa	33
Figura 15.	Lectura de las muestras en el equipo Lector Elisa	33

NOMENCLATURA UTILIZADA

%HR: Porcentaje de humedad relativa

°C: Grados centígrados

ATP: Adenosin trifosfato

g: gramos

GSH-Px: Glutación peroxidasa

ID's: Iodotironinas deiodinasas

m.s.n.m.: Metros sobre el nivel del mar

ng/ml: nanogramos sobre mililitros

NRC: National research council

O₂: Oxigeno

ppm: Partes por millón

Se: Selenio

T3: Hormona triiodotironina

T4: Hormona tiroxina

RESUMEN

El presente trabajo de investigación tiene como objetivo relacionar la ingesta de selenio orgánico, aspectos hormonales, y parámetros sanguíneos. Específicamente de las hormonas tiroideas ya que se piensa están involucradas en el control de la tasa metabólica y disposición de oxígeno, por tanto reduciendo la incidencia de ascitis en pollos broiler. El selenio es parte de la estructura de una selenoproteína llamada deiodinasa, la cual está involucrada en la conversión de la tiroxina (T4) a la forma activa triiodotironina (T3) (Arthur, 1990). La concentración de T3 circulante está positivamente correlacionada con el consumo de oxígeno, (Bobek, 1997). Además es la principal hormona estimulante metabólica (McNabb and King, 1993). La crianza de pollos en la altura está muy relacionada con la presencia de fenómenos de ascitis a través de varios mecanismos como: consumo de oxígeno, menor capacidad de producción de hormonas tiroideas, alteraciones en parámetros sanguíneos (hematocrito, oximetría y frecuencia cardíaca). Esto se lo puede comprobar al estudiar la relación entre la crianza en la altura y el síndrome de ascitis.

El fin del proyecto es de que a través de la ingesta de selenio ya sea de fuente inorgánica u orgánica incrementar la actividad de la proteína deiodinasa que a su vez va a producir más triiodotironina T3, aumentando así positivamente el consumo de oxígeno en el ave, reduciendo de esta forma la incidencia de ascitis.

Palabras claves: Ascitis, Tiroxina, Triiodotironina, Selenio

ABSTRACT

This investigation project has as aim to relate the ingestion of organic selenium, with hormonal, blood parameters and metabolic aspects, specifically with the thyroid hormones because these hormones can be involved in the control of the metabolic rate reducing the incidence of ascitis in broiler chicken.

The selenium is part of the formation seleno-protein named Deiodinase, which is involved in the conversion of the thyroxine (T4) to the active form triiodothyronine (T3). (Arthur, 1990). The concentration of circulating T3 is positively correlated with the consumption of oxygen (Bobek, 1997). Furthermore is the main metabolic stimulating hormone (McNabb and King, 1993). Breeding of chickens in highland has a relation with ascitis phenomenon, through many mechanisms; consumption of oxygen, minor capacity of Thyroid hormones production, disturbed of blood parameters (hematocrite, oxygen saturation and cardiac frequency). It is probed easily by studying the relationship between low temperatures of breeding and cardiac rate of Ascitis

The aim of this project is that through the ingestion of selenium of organic or inorganic sources increase the activity of the Deiodinase protein that will produce more triiodothyronine (T3), increasing in this way positively the consumption of oxygen in the poultry, reducing the incidence of ascitis.

Key words: Ascitis, thyroxine, triiodothyronine, selenio

CAPÍTULO 1: INTRODUCCIÓN

1.1 Formulación del problema

La alta selección genética, la crianza en la altura, temperaturas frías a los pueden estar sometidos los pollos de crecimiento rápido, y una interminable búsqueda de dietas más eficientes con altas concentraciones proteicas y energéticas, ocasiona en las aves problemas de tipo cardiovascular, en especial el síndrome de ascitis; un desorden metabólico que desencadena una serie de factores que conlleva a la muerte del ave, causando grandes pérdidas económicas a los avicultores.

1.2 Justificación del problema

La nutrición animal es un campo que está en constante investigación y desarrollo. La producción de aditivos para la elaboración de alimentos balanceados entre ellos los llamados minerales orgánicos o minerales quelatados. Han creado grandes expectativas hace pocos años, brindando varias ventajas como por ejemplo: mayor digestibilidad y biodisponibilidad de los minerales en los animales.

En el país existen muy pocas investigaciones acerca de minerales orgánicos, ya que por lo general nos regimos en investigaciones que se realizan en otros países. Por lo tanto es de suma importancia antes de incorporar un nuevo aditivo a nuestro alimento hacer las pruebas y ensayos necesarios, con el fin de verificar todo lo requerido.

El presente trabajo de investigación tiene por objeto cuantificar la ingesta de selenio orgánico, con aspectos hormonales, metabólicos, parámetros sanguíneos, relacionándolos con la incidencia de ascitis en pollos broiler.

1.3 Objetivos

1.3.1 Objetivo general

- Comprobar si el selenio administrado en forma de selenio orgánico aumenta la conversión de la hormona T4 a su forma activa T3, en pollos broilers machos.

1.3.2 Objetivos específicos

- Medir la cantidad existente de hormonas tiroideas en pollos broilers machos, alimentados con diferentes concentraciones de selenio.
- Asociar la variación de la concentración de hormonas tiroideas T4 y T3 con el desarrollo de ascitis en pollos broiler.
- Relacionar parámetros productivos y parámetros sanguíneos tales como hematocrito, oximetría, frecuencia cardíaca, con la ingesta de selenio orgánico y la relacionarla con la presencia de ascitis.

1.4 Marco Teórico

1.4.1 Síndrome de ascitis

1.4.1.1 Definición

El síndrome de ascitis es un desorden metabólico, que se desarrolla por muchos factores, algunos de estos de causas desconocidas (1). En pollos broiler es definido como una condición asociada con hipertensión pulmonar, falla del ventrículo derecho del corazón, congestión pasiva del hígado y acumulación de fluidos séricos en la cavidades del cuerpo (2), como se la puede visualizar en la figura 1.



Figura 1.- Pollo broiler con fluido ascítico en la cavidad abdominal, (Tesis de Grado Giovanni Vergara C, 2007)

1.4.1.2 Causas

La crianza de pollos broiler en la altura, conlleva a problemas en la cantidad de oxígeno disponible para el ave, sumado a las bajas temperaturas que pueden presentarse en un manejo inadecuado, desencadenan a una marcada incidencia de ascitis aproximadamente del 5% en los avicultores de la sierra (22).

Muchas situaciones son conocidas e influyen sobre la aparición de ascitis en pollos, algunas tienen que ver con el manejo de la crianza en granjas, las cuales son: niveles de temperatura (24, 25), dióxido de carbono (23), y oxígeno disponible

(26, 27). Otras situaciones son a nivel nutricional como son: tasas de crecimiento rápidas, raciones nutricionales con alta energía, (Scheele et al, 1991; Julian, 1993). (2).

1.4.1.3 Fisiología

El síndrome de ascitis es un problema multifactorial, que puede crear una deficiencia de oxígeno lo que desencadena en el ave un crecimiento del volumen cardíaco, causado a su vez por un flujo mayor de sangre que resulta en un incremento de la presión arterial pulmonar (2). El déficit de oxígeno causa un incremento en la concentración de hemoglobina, volumen celular y el número de eritrocitos. Estos cambios aumentan la viscosidad sanguínea y pueden conducir a la hipertensión pulmonar (Mirsalimi et al., 1993) (2).

La hipertensión pulmonar es la causa para que ocurra la hipertrofia ventricular derecha (figura 2), falla cardíaca, daños a nivel hepática y desbordamiento de fluido sérico dentro de la cavidad abdominal del ave (2). Investigaciones en pollos de carne relacionadas a la saturación de oxígeno, indican que los pollos broilers de crecimiento rápido tienen una baja saturación de oxígeno, comparado con los pollos broilers de crecimiento lento (Julian and Mirsalimi, 1992) (3).

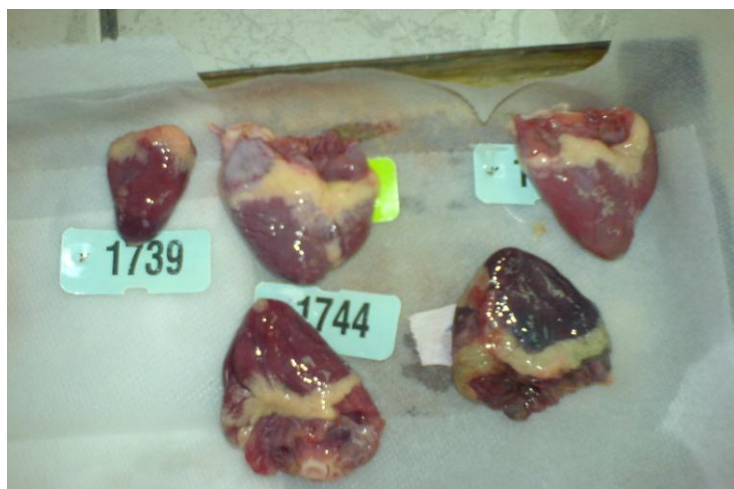


Figura 2.- Corazones de pollos broiler con hipertrofia ventricular derecha, Tesis de Grado de Alejandra Barahona, 2007)

La aparición de la ascitis es demostrada por varios signos patológicos que ocurren antes de la muerte. La acumulación de fluido en la cavidad abdominal es el estado final de este desorden metabólico (4).

1.4.1.4 Estrategias para reducir la incidencia de ascitis

El síndrome de ascitis es un problema que esta enfrentando la industria avícola desde hace algunos años, investigaciones en todo el mundo se ponen en marcha para minimizar los efectos de la ascitis, se ha comparado los efectos de nuevos y prometedores insumos. Muchos nutrientes, medicinas y estrategias de manejo han sido probados para aliviar este problema (5). En estos intentos se han agregado dosis de vitamina C (5), selenio levadura (15), vitamina E (5) por sus capacidades antioxidantes, que se presumen actúan a nivel celular. Ubiquinona (30), clenbuterol (28), cloruro de sodio (31), cloruro de amonio (31), bicarbonato de potasio (31), taurina (32), aspirina (29), son unos de los muchos ingredientes añadidos a la dietas alimenticias de pollos tratando de dar solución al problema.

El uso combinado de altos niveles de vitamina E y selenio orgánico (250 IU de Vit E y 0,3 ppm de selenio levadura), reducen significativamente la mortalidad causada por hipertensión pulmonar (5). La selenio levadura agregada a la dieta a razón del 0,1% también ha sido demostrado que reduce la mortalidad por ascitis hasta un 2,3% comparado con una dieta sin selenio levadura que tiene una mortalidad de 11% (5). Los aminoácidos como la L-arginina al 1% suplementados en la dieta reduce significativa el radio ventrículo derecho:corazón y en consecuencia la mortalidad de ascitis (Wideman et al., 1995). Esto ocurre ya que la L-arginina es requerida como sustrato para el

óxido nítrico, el cual es un poderoso vasodilatador (5). Medicamentos como la aspirina (29), furosemida (5) han demostrado de alguna forma reducir la mortalidad de ascitis, cada uno de ellos atacando alguno de los factores que desencadena este problema, por ejemplo la furosemida es un poderoso diurético que reduce el radio ventrículo derecho:corazón. La aspirina que al ser un vasodilatador ayuda a la mejor circulación sanguínea (5).

Uno de los métodos más efectivos y económicos, en la reducción de ascitis son programas de restricción de alimento, en estos programas se elaboran tablas de consumo nutricional, programa de luz, composición nutricional del alimento y la presentación del alimento. La restricción de alimento puede bajar la mortalidad por ascitis siempre y cuando se tenga unas óptimas condiciones de manejo. El manejo es muy importante se debe mantener la temperatura, calidad de aire, polvo, amoniaco y oxígeno bien controlados, para reducir la incidencia de dicho desorden metabólico, (6).

Las hormonas juegan un papel crucial sobre el desarrollo de ascitis. Hoy en día se están realizando algunos estudios para hallar relaciones entre hormonas como la tiroxina, triiodotironina, corticosterona, eritopoyetina, entre otras, sobre la regulación de la tasa metabólica y entender los mecanismos endocrinológicos que conlleven a una solución del síndrome (11). Se ha tratado de asociar a las hormonas tiroideas con el síndrome de ascitis en pollos broiler, encontrando que las aves con el mencionado desorden metabólico poseen concentraciones de triiodotironina (T3) significativamente menores de las que no poseen ascitis. (7).

1.4.2 Selenio

1.4.2.1 Definición

“El selenio (Se) es un elemento no-metal, que existe en varias formas alotrópicas, se relaciona con el oxígeno, el azufre y el telurio,

con los que forma el subgrupo VI-A de la tabla periódica. Fue descubierto en 1817 por Berzelius y Gahn en los ioduros de las cámaras de plomo de la fábrica de ácido sulfúrico de Gripsholm.

Tiene un peso atómico de 78,96 y número atómico 34. Existe en varias formas: rojo amorfo o vítreo; rojo cristalino (monocíclico); gris metálico (hexagonal) y el selenio negro, que es la variedad metálica, en estado muy fino de subdivisión. Al calentarlo desprende un olor característico, parecido al de las coles podridas.

En el orden de abundancia de los elementos, ocupa el sexagésimo noveno lugar, es pues un elemento bastante escaso ya que su contenido en la corteza terrestre es de 0,09ppm. Se encuentra en cantidades muy pequeñas pero detectables en todos los suelos, tanto forestales como agrícolas. El azufre y el selenio están íntimamente relacionados; la analogía química entre estos dos elementos es de gran importancia desde el punto de vista biológico, ya que el selenio puede reemplazar al azufre en los aminoácidos, glucósidos, glutatión, tiamina y otros compuestos a los que da carácter tóxico”, (14).

Por los años treinta el selenio fue considerado como tóxico a partir de los años cincuenta se empieza a comprobar sus acciones benéficas sobre la fisiología de animales y humanos, (16).

1.4.2.2 Características

Este mineral es bien conocido por el hecho de ser un elemento traza con funciones vitales en humanos y en animales. En la naturaleza al selenio se lo puede encontrar en su forma inorgánica como selenito de sodio o selenato de sodio principalmente y en la forma orgánica se lo puede encontrar en plantas formando complejos con aminoácidos por ejemplo la seleniocisteína, selenometionina (15). El selenio como tal forma parte de muchas proteínas, hasta la fecha han sido descritas alrededor de 30 entre las que destacan las glutatión peroxidasas, las iodotironinas deiodinasas (ID's), selenofosfatasa reductasa entre otras de funciones específicas en el organismo (15).

1.4.2.3 Selenio orgánico

“El selenio orgánico (Se) en la forma de selenometionina es la forma predominante de selenio encontrada en los ingredientes de los alimentos. Por lo tanto, el sistema digestivo de los animales se ha adaptado a esta forma a través de la evolución.

El selenito de sodio es la fuente tradicional para suplementar el selenio utilizado en la industria de alimentos, sin embargo, no se encuentra naturalmente y como resultado es menos efectivo en asimilarse a partir del alimento para crear las reservas de selenio dentro del cuerpo” (Surai, 2002). La forma más común de selenio encontrada en los ingredientes naturales de los alimentos (forrajes, granos de cereales, leguminosas, arroz, soya, etc.) es la selenometionina – un átomo de selenio incorporado en una molécula de metionina. La selenometionina también puede encontrarse en el levadura enriquecida con selenio, pero la cantidad puede variar marcadamente dependiendo de las condiciones de cultivo (Whanger, 2002), lo cuál puede explicar en parte algunos de los hallazgos variables en la investigación en relación con la levadura de selenio” (16).

En investigaciones recientes se comprueba el beneficio de suministrar selenio orgánico en la dieta a comparación del selenio inorgánico, sus beneficios se ven reflejados en la biodisponibilidad, retención del mineral en los tejidos corporales, toxicidad (16) y a nivel ambiental. Además una adecuada ingesta de selenio desarrolla y estimula el sistema inmunológico, al contrario es conocido que una selenio deficiencia desencadena en problemas inmunológicos, (15).

La selenometionina se metaboliza en la misma forma que la metionina, y se acumula activamente en los tejidos corporales proteicos. Los animales que se alimentan con selenometionina fácilmente la incorporan al tejido corporal (músculo), y pronto se convierte en selenocisteína (Beilstein y Whanger, 1986; Beilstein y Whanger, 1988). En contraste, el selenio proporcionado a partir del selenio inorgánico es excretado en la orina, y cantidades mínimas se

incorporan a las proteínas corporales. Esto debido a que en los animales, a diferencia de las plantas, no poseen la habilidad de biosintetizar o combinar el selenio metal con el amino ácido metionina, para formar selenometionina (Schrauzer, 2000; Olson y Palmer 1976).

1.4.2.4 Funciones fisiológicas

El selenio ha sido reconocido como un nutriente esencial en la dieta y juega un papel importante en las funciones inmunológicas, salud y productividad de las aves (18). La recomendación de inclusión en la dieta para pollos broilers según la NRC (1994) es de 0,15mg/kg.

Las materias primas que se usan para la elaboración del alimento ya contienen selenio en su estructura pero normalmente se le suplementa en la dieta (18). Este elemento está totalmente relacionado con la vitamina E, ambos nutrientes protegen la membrana celular de la degeneración oxidativa, la falta de estos nutrientes resulta en daños en tejidos (17). Forma parte de muchas enzimas y proteínas, muchas de ellas han sido reportadas en sistemas microbianos, también forma parte de una enzima llamada 3,3´5-triiodotironina (17).

La 3,3´5-triiodotironina es una enzima microsomal, transmembránica, con la porción catalítica (carboxilo terminal) en el citosol. La función de esta enzima es remover un átomo de yodo (5´) de la tiroxina convirtiéndola en 3,5,3´-triiodotironina, en este proceso el selenio juega un rol esencial, ya que es un cofactor de la enzima al ser un fuerte catalizador para que la reacción se de (19). Además de las deiodinasas (IDs) el selenio forma parte de otras moléculas como la glutatión peroxidasa (GSH-Px) que es una enzima que se encarga de evitar la hidroxidación lipídica y el daño de los radicales libres que causan daño a nivel celular. Según Payne (2005), al comparar el uso de selenio orgánico con el selenio inorgánico no existen diferencias significativas en las variables de interés comercial como ganancia de peso, conversión alimenticia, consumo de alimento, pero si hay un incremento de selenio en músculo y plasma sanguíneo en la dieta que

fue a base de selenio orgánico (18); Yonon (2007), corrobora esta información.

Una función importante del selenio es proteger al organismo del efecto de los metales pesados incluyendo al cadmio, mercurio y plata, también influye en el metabolismo y toxicidad de una variedad de drogas y químicos, (17). La acción de la vitamina E conjuntamente con las enzimas dependientes de selenio son antioxidantes que protegen la integridad celular, a las células fagocíticas y los tejidos circundantes del ataque oxidativo de los radicales libres producidos por el estallido respiratorio de los neutrófilos y macrófagos durante la fagocitosis, (14).

1.4.2.5 Deficiencias de selenio

Las deficiencias de selenio en pollos ocasiona algunas enfermedades como, diátesis exudativa, distrofia pancreática, y distrofia muscular nutricional (17). La diátesis exudativa y la distrofia pancreática pueden ser completamente prevenidas por la inclusión de selenio en la dieta, mientras que la distrofia muscular depende de un adecuado nivel de vitamina E, aminoácidos y selenio administrado (33).

1.4.3 Hormonas Tiroides

Las hormonas tiroxina (T4) y triiodotironina (T3) son secretadas por la glándula tiroides, (ver figura 3), y la calcitonina (Hegde y col, 1987). La T3 y T4 se unen en la sangre a prealbúminas, albúminas y especialmente a la globulina transportadora de tiroxina, siendo liberadas al alcanzar células tisulares (Guyton, 1994) (8). La T4 es producida en la glándula tiroides y es considerada como una prohormona, hasta que es convertida en su forma metabólicamente activa la 3,3',5-tri-iodotironina (T3), este proceso es mediado por unas enzimas llamadas iodotironinas deiodinasas (IDs), (9). Dos formas de ID pueden realizar esta monodeionización de T4 a T3, el tipo I la

enzima (ID-1) que esta presente en el hígado y en riñón, está involucrado en la producción de T3, mientras que en el cerebro, glándula pituitaria, tejido adiposo, contiene el tipo II la enzima (ID-2), (9). Los dos tipos de ID's contienen en su estructura selenio y su deficiencia inhibe la conversión de T4 a T3, originando un desorden metabólico causado por el desbalance de las hormonas tiroides en el animal, (9).

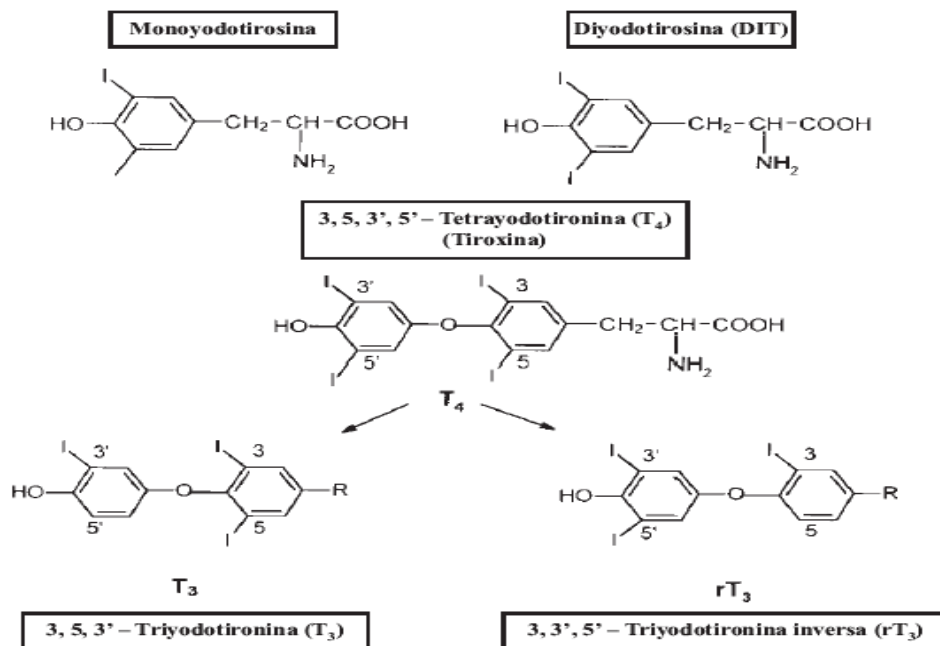


Figura 3.- Estructura química de los principales compuestos yodados de la glándula tiroides, (21).

Arthur, 1990; demuestra la relación del selenio con las enzimas IDs y su efecto en las hormonas tiroides, (9). En aves adultas de muchas especies la concentración de T4 en plasma o suero está en el rango de 5–15 ng T4/ml (6-19 pmol/ml) y de T3 en el rango de 0.5–4 ngT3/ml (0,7–1,5 pmol/ml) (10). Similares concentraciones de T3 se presentan en mamíferos y en aves, mientras que las concentraciones de T4 si difieren entre especies (10).

1.4.3.1 Funciones de las hormonas tiroides

Las hormonas tiroideas están estrechamente relacionadas en el control de la tasa metabólica, intervienen en el desarrollo del animal,

por ejemplo en el proceso de diferenciación y maduración de muchos tejidos de las aves, incremento de la masa corporal, también a nivel celular actúa en la proliferación de las mismas. En humanos el estudio de estas hormonas es muy extenso, en aves existe menos información (10).

Los cambios en la temperatura y disponibilidad de alimento parecen ser factores de relevancia que influyen en las funciones tiroideas, (10). Se puede comprobar que la concentración de T3 circulante está positivamente correlacionada con el consumo de oxígeno en pollos palilleros, (Bobek, 1997). Las funciones de T4 son: aumentar el metabolismo celular, el número de mitocondrias, la síntesis de adenosin trifosfato (ATP). En relación al metabolismo energético T3 y T4 promueven la absorción de glucosa, la glicólisis, la gluconeogénesis, la secreción de insulina y la lipólisis, (Cunningham, 1992), (8). Las hormonas tiroideas y otras hormonas como la corticosterona juegan un papel crucial en el proceso de la eritropoyesis, la T3 controla principalmente la ruta de la diferenciación celular, en pollos con ascitis incrementa el número el número de glóbulos rojos los cuales están parcialmente inmaduros y además una significativa reducción de hemoglobina en estas células, (11).

Las hormonas tiroideas aumentan el consumo de oxígeno de la mayoría de los tejidos, con elevación del metabolismo base y la producción de calor, al aumentar el metabolismo incrementa las oxidaciones de los hidratos de carbono, luego de los lípidos y proteínas, también aumenta el metabolismo del agua, minerales y vitaminas, (13). Todos los órganos del animal son blanco para la acción de las hormonas tiroideas; sus principales efectos recaen sobre, el metabolismo, crecimiento, desarrollo, sistema cardiovascular, sistema nervioso central, órganos reproductivos, (20). Según Klandorf y Harvey (1985), la concentración de T3 circulante está positivamente correlacionada con el consumo de oxígeno (Bobek, 1997 citado por Sandoval, 2004); además es la principal hormona estimulante metabólica y se halla relacionada con la regulación de la temperatura y es un importante

promotor del crecimiento en pollos (McNabb and King, 1993). Por ello puede estar comprometida en las modificaciones de la tasa de crecimiento en respuesta a la temperatura ambiental (12)

En resumen podemos citar que las hormonas tiroideas son indispensables para el crecimiento y desarrollo, presentan una acción sobre la temperatura, estimula síntesis y degradación de proteínas, regulan las mucoproteínas y el agua extracelular, actúan sobre la síntesis y degradación de los lípidos, estimula el crecimiento y diferenciación de órganos, aumentan el consumo de oxígeno, (20).

1.5 Hipótesis

- 1.5.1** La ingesta de selenio orgánico en pollos aumenta significativamente la conversión de tiroxina T4 a triiodotironina T3.
- 1.5.2** Al aumentar la cantidad de triiodotironina T3 en el organismo, se reduce la incidencia de ascitis en pollos broiler.

CAPÍTULO 2: MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Participantes: instituciones, empresas, personas.

La parte experimental del proyecto se lo realizó en el galpón de pruebas de la empresa Pronaca, localizado en Chiche a una altura de 2450 m.s.n.m., cantón Quito, provincia Pichincha, país Ecuador.

Entre los colaboradores del proyecto se encuentran:

Dr. Romo Germán D.M.V.Z Ph.D.

Dr. Kalinowski Antonio Ing. Zootecnista. Ph.D.

2.2. Zona de estudio

2.2.1. Galpón experimental

El lugar de la experimentación es un galpón destinado para la crianza de pollos el cual es de tipo abierto, los comederos son de

bandeja para los primeros días y luego se dispone de comederos tipo tubular, los bebederos son de tetina (nipple), la cama utilizada esta compuesta de viruta de madera, se dispuso de 42 jaulas habilitadas con una dimensión de 3m x 1,50m, teniendo una densidad de 11 pollos/m² (figura 3).



figura 4. Galpón experimental

2.2.2. Laboratorio

La fase de laboratorio se la realizó en los laboratorios de Biotecnología de la Facultad de Ciencias Aplicadas de la Escuela Politécnica del Ejército, ubicado en Sangolquí, Pichincha, Ecuador. El análisis proximal del alimento se hizo en los laboratorios de control de calidad de la Planta de Pronaca Puenbo, además el análisis de la concentración de selenio en las dieta fue hecho en el laboratorio Blenden S.A., Riobamba, Ecuador.

2.3. Período de investigación

El estudio se inició el mes de noviembre del 2006 con la revisión bibliográfica, arrancando la parte práctica el 05 de marzo del 2007, finalizando la parte práctica el 15 de mayo del 2007.

2.4. Diseño

Se utilizó 2100 pollitos bb machos provenientes de la incubadora de aves Pichincha (Avepica), corresponden a la línea Ross x Ross 308, y se distribuyeron en 42 jaulas al azar. Se realizó un arreglo factorial con dos factores que fueron: concentración de selenio y tipo de manejo, los pollos fueron alimentados con tres niveles de concentración de selenio (0 ppm, 0.15 ppm, 0.30 ppm) y sometidos a dos niveles de tipo de manejo (tipo sierra y tipo costa).

En el factor tipo de manejo se consideró el tipo de alimento, el programa de alimentación y el programa de luz en conjunto para cada uno de los niveles que van a ser sometidos los pollos. El factor concentración de selenio involucró la elaboración de alimento a las diferentes concentraciones requeridas, se incluyó selenio Sel-Plex de la empresa Alltech, (Tabla 1).

Tabla 1. Factores y niveles del diseño experimental

FACTOR	NIVEL	COMENTARIO
Tipo de manejo	Sierra	Programa de luz, programa de alimento, presentación física del alimento.
	Costa	Programa de luz, programa de alimento, presentación física del alimento.
Concentración de selenio Sel-plex	Control	Balanceado Pronaca Engorde Comercial
	Control + 0,15 ppm de Se	Balanceado Pronaca Engorde Comercial + 0,15 ppm de Se, SelPlex
		Balanceado Pronaca Engorde

	Control + 0,30 ppm de Se	Comercial + 0,30 ppm de Se, SelPlex
--	-----------------------------	--

2.5. Procedimiento

2.5.1. Crianza y Programa de Manejo de los pollos

2.5.1.1. Programa de alimentación

El programa de alimentación consiste en la presentación física del alimento, los días en que van a ser suministrados cada tipo de alimento, y la restricción o no del alimento. En la (tabla 2) se detalla dicho programa.

Tabla 2. Programa de alimentación, tipo de manejo costa y sierra

Alimento	Presentación Física	Días de Alimentación	Suministro
Tipo de Manejo Sierra			
Engorde 1	Polvo	1 a 18	Restringido
Engorde 1 + 0,15ppm de Se	Polvo	1 a 18	Restringido
Engorde 1 + 0,30ppm de Se	Polvo	1 a 18	Restringido
Engorde 2	Polvo	19 a 32	Restringido
Engorde 2 + 0,15ppm de Se	Polvo	19 a 32	Restringido
Engorde 2 + 0,15ppm de Se	Polvo	19 a 32	Restringido
Engorde 3	Pellet 4mm	33 a 42	Restringido
Engorde 3 + 0,15ppm de Se	Pellet 4mm	33 a 42	Restringido
Engorde 3 + 0,30ppm de Se	Pellet 4mm	33 a 42	Restringido
Tipo de Manejo Costa			
Engorde 1	Migajeado	1 a 18	A libertad
Engorde 1 + 0,15ppm de Se	Migajeado	1 a 18	A libertad
Engorde 1 + 0,30ppm de Se	Migajeado	1 a 18	A libertad
Engorde 2	Migajeado	19 a 28	A libertad
Engorde 2 + 0,15ppm de Se	Migajeado	19 a 28	A libertad
Engorde 2 + 0,15ppm de Se	Migajeado	19 a 28	A libertad
Engorde 3	Pellet 4mm	29 a 35	A libertad
Engorde 3 + 0,15ppm de Se	Pellet 4mm	29 a 35	A libertad
Engorde 3 + 0,30ppm de Se	Pellet 4mm	29 a 35	A libertad
Engorde 4	Pellet 4mm	36 a 42	A libertad
Engorde 4 + 0,15ppm de Se	Pellet 4mm	36 a 42	A libertad

Engorde 4 + 0,30ppm de Se,	Pellet 4mm	36 a 42	A libertad
----------------------------	------------	---------	------------

2.5.1.2. Programa de luz

Se basa en las horas de luz que van a ser suministradas a los dos tipos de manejos, estos ayuda a la restricción del alimento (tabla 3).

Tabla 3. Programa de luz para crianza de pollos para manejo sierra y costa

PROGRAMA DE LUZ MANEJO SIERRA		
<i>Edad del pollo</i>	<i>Horas luz</i>	<i>Horario de luz</i>
1 a 7 días	24	Permanente
8 a 49 días	12	6:00 a 18:00
PROGRAMA DE LUZ MANEJO COSTA		
<i>Edad del pollo</i>	<i>Horas luz</i>	<i>Horario de luz</i>
1 a 7 días	24	Permanente
8 a 18 días	18	00:00 a 2:00 y 5:00 a 21:00
19 a 28 días	20	23:00 a 2:00 y 4:00 a 21:00
29 a 49 días	22	01:00 a 3:00 y 4:00 a 00:00

2.5.1.3. Programa de temperatura

Se considera el programa sugerido en el manual de crianza de pollos Ross para ambientes con humedad relativa HR 60%, en la tabla 4 se muestra las temperaturas en las que van a ser sometidas los dos tipos de manejo.

Tabla 4. Programa de temperatura para crianza de pollos Ross

Edad del ave (días)	Temperatura °C
0	30,5
3	29,5
6	28,5
9	27,5
12	25
15	24
18	23
21	22
24	21
27	21

2.5.1.4. Programa Tipo de Manejo Sierra

Se alimentó a las aves por 42 días, manteniendo el programa de alimentación sierra, programa de luz sierra, programa de temperatura adecuada, el consumo de alimento de estas aves es a restricción basándonos en la tabla de consumos y pesos deseados en el ensayo, la cual se detalla en la *tabla 5*, el alimento fue elaborado en la planta de Pronaca Puenbo.

Tabla 5. Tabla de consumos y pesos deseados en el ensayo

TIPO	EDAD	GRAMOS	GRAMOS	PESOS EN
	DIAS	CONS X AVE	CONS ACUMULADO	GRANJA

ENGORDE 1	1	12	12	40
	2	13	25	
	3	16	41	
	4	20	61	
	5	24	85	
	6	28	113	
	7	28	141	135
	8	30	171	
	9	30	201	
	10	33	234	
	11	35	269	
	12	40	309	
	13	42	351	
	14	45	396	294
	15	47	443	
	16	52	495	
	17	56	551	
	18	60	611	
ENGORDE 2	19	64	675	
	20	68	743	
	21	73	816	572
	22	78	894	
	23	80	974	
	24	82	1056	
	25	85	1141	
	26	88	1229	
	27	92	1321	
	28	96	1417	855
	29	102	1519	
	30	106	1625	
	31	110	1735	
	32	112	1847	
ENGORDE 3	33	117	1964	
	34	120	2084	
	35	123	2207	1325
	36	126	2333	
	37	129	2462	
	38	133	2595	
	39	137	2732	
	40	172	2904	
ENGORDE 4	41	175	3079	
	42	175	3254	1900

2.5.1.5. Programa Tipo de manejo costa

Se utilizó el programa de alimentación, programa de luz y temperatura costa, requeridos para la crianza en altas temperaturas, el alimento se lo elaboró en la planta de Pronaca Quevedo.

2.5.1.6. Registros

En el transcurso del experimento se llevaron los siguientes registros:

- parámetros productivos
- ganancia de peso
- consumo diario de alimento
- conversión alimenticia
- mortalidad (causas de mortalidad individual)
- medición de la oximetría
- medición del hematocrito
- medición de la hormona tiroxina (T4)
- medición de la hormona triiodotironina (T3).

2.5.2. Análisis de oximetría y ritmo cardiaco en pollos broilers, (22).

2.5.2.1. Objetivo

- Medir la saturación de O₂ y ritmo cardiaco en pollos broilers

2.5.2.2. Equipo

- NONIN 8600V es un oxímetro de pulso que está calibrado para determinar el porcentaje de saturación de oxígeno arterial y el ritmo cardíaco, es de uso veterinario, (figura 4).



figura 5. Equipo Nonin 8600V, oxímetro de pulso

2.5.2.3. Fundamento

La saturación de O₂ determinado por el equipo (NONIN 8600V) esta definido como la cantidad de oxígeno unido a la hemoglobina de los enterocitos en una cierta cantidad de sangre dividido para la capacidad de oxígeno. El ritmo cardiaco esta definido como el número de secuencia de contracciones del corazón (aurículas y ventrículos) por cada minuto.

2.5.2.4. Consideraciones

Para esta determinación las aves deben estar lo menos estresadas posible. Una vez ubicada el sensor en el ala se espera aproximadamente 10 segundos hasta que la señal se traduzca en el monitor del equipo. La lectura de saturación de oxígeno debe estar cercano al 95% en aves sanas, para el caso de aves con problemas cardiorrespiratorios la saturación de oxígeno es menor a 90% pero nunca inferior a 75%.

Para la lectura de ritmo cardiaco los valores en aves jóvenes esta cercano a 474 latidos /minuto, Chavez (2006), en aves sobre 1 semana de edad puede estar entre 400 a 500 latidos / minuto, (Ringer, 1957), valores menores a 400 / minuto no se consideran reales. En el

caso de la luz presente tres colores: verde significa que estamos correctamente ubicados, amarillo indica que la señal tiene interrupciones por que estamos ubicados cerca de un vaso y la luz roja significa que no tenemos señal por que estamos fuera del vaso.

2.5.2.5. Procedimiento

Se puede determinar niveles de saturación de oxígeno y ritmo cardiaco en aves vivas desde 1 día de vida hasta la edad de faenamiento aproximadamente 45 días, a continuación se detallan particulares en cada edad:

- **Pollos de 1 hasta 7 días de edad.**

El tipo de lector a utilizar es el pulsador con clip, el mismo se utiliza dirigiendo la luz del lector hacia la arteria radial (lado interno del ala), se puede colocar el clip en la parte proximal del ala, o media de la extremidad, (figura 5).



figura 6. Lectura de oximetría, pollo de 1 día de edad

- **Pollos de 8 a 14 días de edad.**

El tipo de lector a utilizar es el pulsador con clip o lector de barra. El mismo se utiliza dirigiendo la luz del lector hacia la arteria

radial (lado interno del ala), se puede colocar el clip en la parte proximal del ala o media de la extremidad. Otro punto de determinación es la pierna a nivel de muslo, para lo cual se coloca el pulsador con clip o lector de barra o botón, en el lado interno de la extremidad, (figura 6).



figura 7. Lector de barra, colocado en el ala del pollo.

- **Pollos de 15 o más días de edad.**

El tipo de lector a utilizar es el de barra o botón, el mismo utiliza en la pierna a nivel de muslo, para lo cual se coloca el pulsador en el lado interno de la extremidad.

2.5.3. Medición de hematocrito

2.5.3.1. Objetivo

- Medir el porcentaje de hematocrito en sangre de pollos broilers.

2.5.3.2. Fundamento

Hematocrito indica separación de la sangre en sus componentes y es el porcentaje de células rojas empaquetadas en un volumen determinado de sangre. La importancia de esta prueba esta en la utilidad para diagnosticar anemias, policitemia y relacionarla con el síndrome de ascitis.

2.5.3.3. Materiales (figura 7)

- Aguja #26
- Capilares con anticoagulante
- Plastilina
- Gasas



Figura 8. Materiales para realizar prueba de hematocrito

2.5.3.4. Equipos

- Microcentrifuga Haematokrit 210, (figura 8).



figura 9. Microcentrifuga

2.5.3.5. Procedimiento

1. En aves puncionar la vena alar o femoral con aguja N# 26 (figura 9).



figura 10. Punción de vena alar

2. Aproximar el extremo del capilar identificado con color rojo a la sangre
3. Llenar el capilar con sangre fresca o sangre anticoagulada hasta las tres cuartas partes (volumen para lectura) (figura 10).
4. Cerrar el extremo por el que se lleno el capilar con plastilina o al calor.

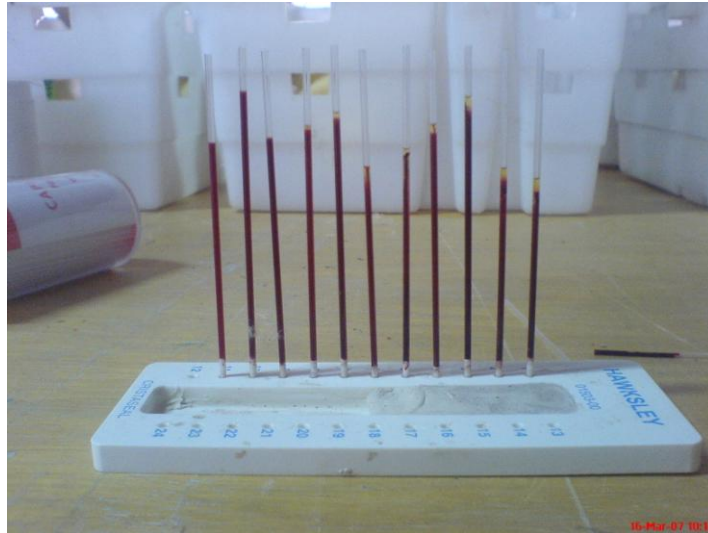


figura 11. Capilares con sangre aviar .

5. Centrifugar la muestra en la micro centrífuga por 7 minutos a 5000 RPM.
6. Leer el porcentaje de células rojas empaquetadas, con relación al volumen total de sangre que esta en el tubo (figura 11).

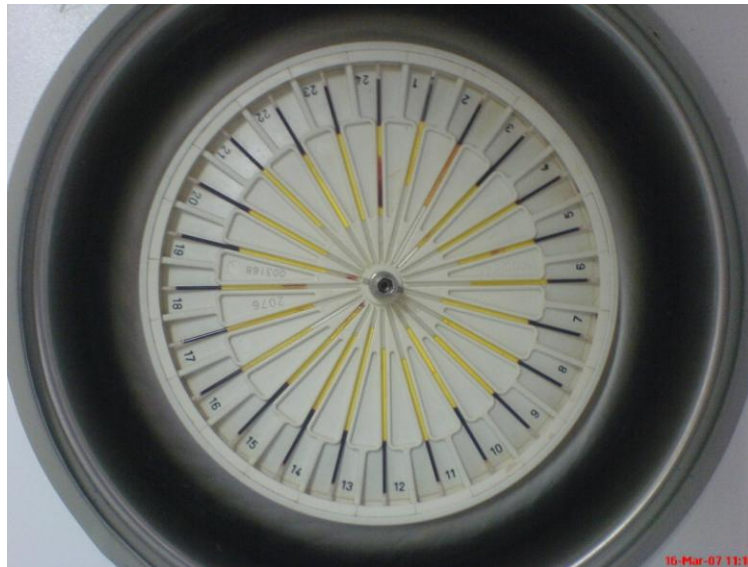


figura 12. Capilar centrifugados, en centrifuga.

2.5.3.6. Consideraciones

Se debe llenar el capilar evitando que se introduzca aire y separe la columna de sangre. El volumen de sangre a llenar debe ser mayor al 60% del capilar (volumen para realizar la lectura). Es importante estandarizar la centrifuga periódicamente, lo que se realiza

centrifugando varios hematocrito de un mismo animal, a diferentes tiempos, hasta obtener la estabilización del hematocrito. El tiempo más corto en el que se estabiliza el valor, es el que debe aplicar en la centrifugación.

Los valores que se consideran normales en aves sanas están entre 28 a 35 %.

2.5.4. Medición de la hormona tiroxina (T4).

La prueba para la medición de T4 es un inmunoensayo ELISA que está diseñado para la determinación cuantitativa de tiroxina en suero o plasma.

2.5.4.1. Fundamento de la prueba

En el ELISA para T4, una cantidad conocida de anticuerpos anti-T4 es depositada en micro posillos, una cantidad medida muestra desconocida y una cantidad constante de conjugado de T4 son adheridos a los micro posillos. Durante una hora de incubación a 37°C, la T4 y el conjugado de T4 compiten por los limitados sitios para encajar sobre el anticuerpo anti-T4. Después de 60 minutos del periodo de incubación, los micro posillos son lavados 5 veces con buffer de lavado para remover algunos conjugados de T4 libres. Una solución de TMB es adherida e incubada por 20 minutos, obteniendo un color azul. El color obtenido es posteriormente frenado con la adicción de HCl 2N, y se mide la absorbancia por espectrofotometría a 450nm. La intensidad del color formado es proporcional a la cantidad de enzima presente y es inversamente proporcional a la cantidad de T4 no marcada en la muestra.

2.5.4.2. Materiales del kit

1. Micro pocillos con anticuerpos, 96 posillos por bloque.
2. Estándar de referencia 1 set, listo para usar (0,5,10,25,50,100,300 ng/ml).
3. Agente conjugado de T4 HRP, 12ml
4. Agente TMB color (listo para usar) 12ml

5. Solución de frenado (2N HCl) 6ml
6. 20X wash buffer, 20 ml

2.5.4.3. Materiales

1. Micropipetas Eppendorf: 50ul, 100ul, 200ul y 1.0ml
2. Soporte de pipetas
3. Papel absorbente
4. Papel graph

2.5.4.4. Equipos

1. Agitador Vórtex
2. Lector de placas ELISA Biotek ELx800

2.5.4.5. Preparación de las muestras

- Todos los reactivos a utilizar deben ser llevados a temperatura de 25-28°C antes de usarse.
- Preparar la cantidad de buffer de lavado por dilución de una parte con 19 partes (1/19) de agua destilada.
- Los estándares de referencia están listos para usarse y deben ser mantenidos a -20°C, si no se usarán por más de una semana.

2.5.4.6. Procedimiento del ensayo

1. Identificar los pocillos que se van a utilizar para la medición.
2. Depositar 50ul de cada uno de los estándar y muestras en los respectivos posillos.
3. Colocar 100ul de conjugado T4 HRP, en cada posillo. Mezclar por 30 segundo.
4. Incubar a 37°C por 60 minutos.

5. Lavar y desechar con el buffer de lavado los micropocillos durante 5 veces.
6. Golpear los posillos firmemente sobre papel absorbente o papel toalla para remover todo el residuo de gotas de agua.
7. Colocar 100ul de TMB color en cada posillo. Mezclar por 10 segundos, (figura 12).

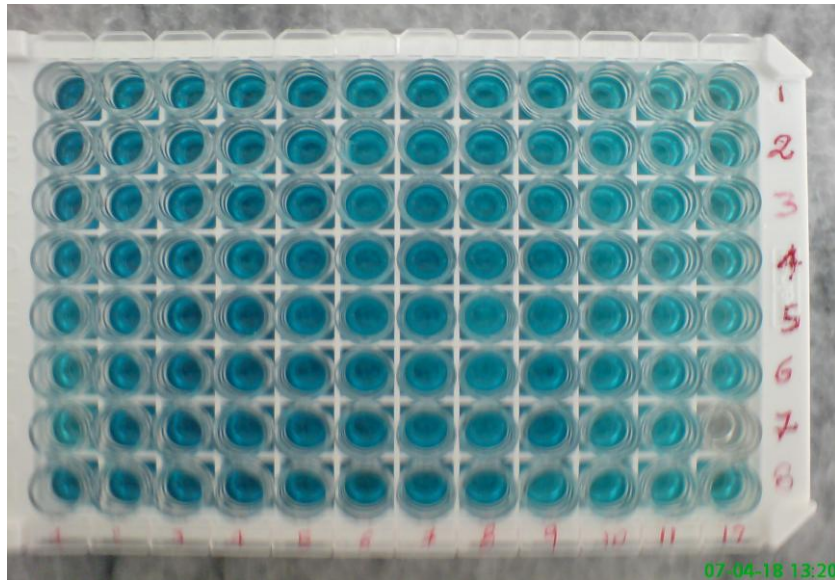


figura 13. Muestra de suero colocadas TMB color, observece el color azul de las muestra al momento de poner TMB.

8. Incubar en temperatura ambiente por 20 minutos, en la oscuridad.
9. Frenar la reacción por la adicción de 50 ul de 2N HCl en cada posillo.
10. Mezclar por 30 segundo. Es importante observar el cambio de color azul a amarillo, (figura 13).

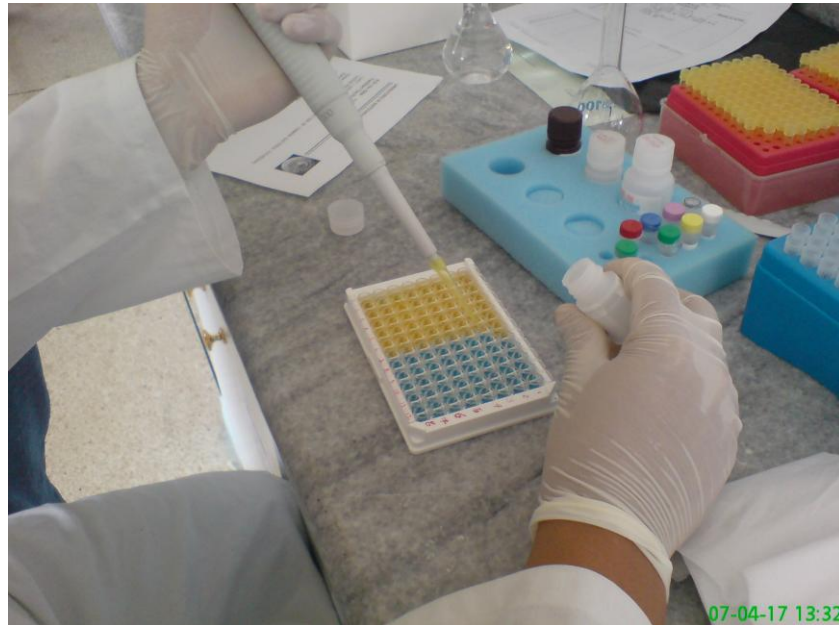


figura 14. Se coloca la solución Stop, si el procedimiento es correcto se observa el cambio de coloración en los pocillos.

11. Leer la densidad óptica a 450nm con el lector de micro posillos.



figura 15. Lectura de las muestra en el equipo Lector Elisa ELx800. Nota importante: el paso de lavado es muy crítico y un insuficiente lavado puede resultar con poca precisión y lectura de absorbancia falsamente elevada.

2.5.4.7. Cálculo de los resultados

Calcular el intermedio de absorbancia evaluado (A450) por cada set de estándares y muestras. Construir una curva estándar en una gráfica con la absorbancia obtenida de cada estándar de referencia, estas concentraciones en ng/ml en paper graph, con la evaluación de absorbancia en el eje vertical de la Y, y las concentraciones en el eje horizontal de las X. Use la media de absorbancia evaluada para cada muestra a determinar la correspondiente concentración de T4 en ng/ml desde la curva estándar.

2.5.4.8. Valor esperado

La concentración mínima detectable de T4 por ensayo esta estimada en 1ng/ml.

2.5.5 Medición de la Hormona Triiodotironina (T3).

La prueba para la medición de T3 es un inmunoensayo ELISA que está diseñado para la determinación cuantitativa de triiodotironina en suero o plasma

2.5.5.1 Fundamento de la prueba

En el ELISA para T3, una cantidad conocida de anticuerpos anti-T3 es depositada en micro posillos, una cantidad medida muestra desconocida y una cantidad constante de conjugado de T3 son adheridos a los micro posillos. Durante dos horas de incubación a 37°C, la T3 y el conjugado de T3 compiten por los limitados sitios para encajar sobre el anticuerpo anti-T3. Después de 60 minutos del periodo de incubación, los micro posillos son lavados 5 veces con buffer de lavado para remover algunos conjugados de T3 libres. Una solución de TMB es adherida e incubada por 20 minutos, obteniendo un color azul. El color obtenido es posteriormente frenado con la adicción de HCl 2N, y se mide la absorbancia por espectrofotometría a 450nm. La intensidad del color formado es proporcional a la cantidad de enzima presente y es inversamente proporcional a la cantidad de T3 no marcada en la muestra.

2.5.5.2. Materiales del kit

Los mismos materiales del literal 2.5.4.2.

2.5.5.3. Materiales

Ver literal 2.5.4.4.

2.5.5.4. Equipos

Ver literal 2.5.4.5.

2.5.5.4. Preparación de las muestras

1. Todos los agentes deben ser llevados a temperatura de (25-28°C) antes de usarse.
2. Preparar la cantidad de buffer de lavado por dilución de una parte con 19 partes (1/19) de agua destilada.

2.5.5.5. Procedimiento del ensayo

- Identificar los pocillos que se van a utilizar para la medición.
- Depositar 50ul de cada uno de los estándar y muestras en los respectivos posillos.
- Colocar 100ul de conjugado T3 HRP, en cada posillo. Mezclar por 30 segundo.
- Incubar a 37°C por 120 minutos.
- Lavar y desechar con el buffer de lavado los micro posillos 5 veces.
- Golpear los posillos firmemente sobre papel absorbente o papel toalla para remover todo el residuo de gotas de agua.
- Colocar 100 ul de TMB color en cada posillo. Mezclar por 10 segundos.
- Incubar en temperatura ambiente por 20 minutos, en la oscuridad.
- Frenar la reacción por la adicción de 50 ul de 2N HCl en cada posillo.
- Mezclar por 30 segundo. Es importante observar el cambio de color azul a amarillo.
- Leer la densidad óptica a 450nm con el lector de micro posillos.

2.5.5.6. Cálculo de los resultados

Calcular el intermedio de absorbancia evaluado (A450) por cada set de estándar, muestras, controles y muestras de pacientes.

construir una curva estándar por una gráfica con la absorbancia obtenida desde cada referencia estándar, estas concentraciones en ng/ml en paper graph, con la evaluación de absorbancia en el eje vertical de la Y, y concentraciones en el eje horizontal de las X. Use la media de absorbancia evaluada para cada muestra a determinar la correspondiente concentración de T3 en ng/ml desde la curva estándar.

2.5.5.7. Valor esperados

La concentración mínima detectable de T3 por ensayo esta estimada en 0,5 ng/ml.

a. Análisis de datos

Cada una de las 6 combinaciones que resultaron del diseño de tratamientos tienen 50 pollos. Se los colocó en las jaulas en una distribución completamente al azar dentro de los tratamientos, se realizó 6 réplicas por cada tratamiento.

2.6.1. Variables de respuesta

tabla 6. Variables de respuesta del experimento

Tiroxina T4 total	Niveles de T4 plasmático
Triiodotironina T3 total	Niveles de T3 plasmático
% de mortalidad	Tasa de mortalidad causado por ascitis.

Hematocrito	Porcentaje del volumen total de sangre compuesto de glóbulos rojos
Saturación de oxígeno	Cantidad de oxígeno unido a la hemoglobina de los enterocitos en una cierta cantidad de sangre dividido para la capacidad de oxígeno.
Frecuencia cardíaca	Son las pulsaciones por minutos que posee el pollo

2.6.2. Modelo estadístico para el arreglo factorial planteado

Factor A = Concentración de selenio

a_0 = Dieta control sin selenio orgánico añadido (0 ppm)

a_1 = Dieta control + 0,15 ppm de selenio orgánico añadido

a_2 = Dieta control + 0.30 ppm de selenio orgánico añadido

Factor B = Tipo de manejo

b_1 = Tipo de manejo sierra

b_2 = Tipo de manejo costa

$$y_{ijk} = \mu + a_i + b_j + (ab)_{ij} + e_{ijk}$$

Donde:

$i = 0,1,2, a$

$j = 1,2, b$

$k = 1,2,3, \dots, 6(\text{replicas})$

- y_{ijk} = Es la información obtenida de las variables de respuesta:

Por ejemplo:

Medición de tiroxina (ng/ml) = y_{ijk}

- μ = Es la media general de los tratamientos del ensayo
- a_i = Efecto ocasionado por el i-ésimo nivel de la concentración de selenio.

Por ejemplo:

a_2 = Efecto ocasionado por la concentración de 0,30 ppm de selenio

- b_j = Efecto ocasionado por el j-ésimo nivel del tipo de manejo.

Por ejemplo:

b_1 = Efecto ocasionado por el tipo de manejo sierra.

- $(ab)_{ij}$ = Efecto ocasionado por la interacción entre el i-ésimo nivel de la concentración de selenio y el j-ésimo nivel del tipo de manejo.

Por ejemplo:

$(ab)_{12}$ = Efecto ocasionado de los factores concentración de selenio y tipo de manejo, de la interacción entre los niveles concentración de selenio 0,20 ppm y tipo de manejo costa.

- e_{ijk} = Es el error experimental aleatorio causado por los factores y las repeticiones en el ensayo

CAPITULO III. RESULTADOS Y DISCUSION

3.1. Peso corporal, consumo y ganancia de peso de las aves.

El peso de los pollos en el día 1, de los factores tipo de manejo y concentración de selenio son similares y no poseen diferencia significativa. En la primera semana de crianza existió ya una diferencia significativa ($P < 0,05$) en los pesos corporales siendo mayor el tipo de manejo costa, en el factor concentración de selenio también existió diferencia significativa favoreciendo al nivel control + 0,15ppm de Se. En la segunda semana de crianza se mantuvo la misma tendencia, sin embargo en la tercera semana existe una diferencia ($P < 0,067$) obteniendo un mayor peso las aves que consumen selenio en la dieta control+0,15ppm de Se. Desde la segunda semana hasta la sexta semana poseen un mayor peso significativamente, las aves con tipo de manejo costa. El efecto sobre un mayor peso en las aves con la inclusión de selenio desaparece desde la cuarta semana de crianza

hasta el sacrificio de las aves que fue el día 42. Los resultados de los pesos de las aves en el transcurso de la crianza se presentan en la tabla 7.

El consumo de alimento es mayor en el tipo de manejo costa ($P < 0,001$) desde la primera semana hasta el final de la crianza que fue la sexta semana, se observó también que en la sexta semana existe un mayor consumo, en las aves que son alimentadas con una dieta control + 0,30 ppm de Se, además de existir una interacción significativa ($P < 0,05$) entre tipo de manejo y concentración de selenio. Los resultados del consumo de alimento semanal de las aves se encuentran en la tabla 8.

Ganancia de peso es altamente significativa ($P < 0,001$) en el factor tipo de manejo, siendo mayor la ganancia de peso en el tipo de manejo costa hasta el día 35, en el intervalo de días del 36 a 42, se encontró una mayor ganancia de peso en el tipo de manejo sierra, en los días del 16 al 28 se reportó una mayor ganancia de peso en las aves que consumían la dieta control + 0,30 ppm de Se, además de existir una interacción entre tipo de manejo y concentración de selenio. Los resultados de la ganancia de peso de las aves se la puede visualizar en la tabla 9.

Los dos tipos de manejo y concentraciones de selenio que fueron sometidas las aves en este experimento, aclaran algunos procesos fisiológicos y metabólicos. Julian, (1993) menciona que la extensa selección de los pollos para alcanzar niveles máximos de masa corporal, ha tenido como resultado cambios en la anatomía y fisiología del flujo de sangre hacia los pulmones, con la consecuente falta de oxígeno en los tejidos del organismo.

Al analizar peso corporal, consumo de alimento y ganancia de peso de las aves, no existe diferencia significativa al incluir en la dieta selenio levadura en concentraciones de 0,15ppm y 0,30ppm. Estos resultados obtenidos concuerdan con los de Payne y Southern (2005), quienes comparan una fuente de selenio inorgánico con dos fuentes de selenio orgánico y no reportan diferencias ($P > 0,05$) en las variables mencionadas, también Yoon, Werner y Butler (2007) estudiaron el efecto del selenio en el crecimiento del ave, alimentaron a las aves con selenio Sel Plex con una concentración de 0,3ppm; obteniendo similares resultados.

El efecto que tiene el selenio sobre el peso corporal del ave, se evidencia hasta la segunda semana en donde existe diferencia significativa, pero esta tendencia desaparece en la tercera semana y se mantiene hasta el final de la crianza. Existe diferencia en el peso corporal entre el tipo de manejo costa y sierra, ya que las aves del manejo costa tienen libre acceso al alimento por lo que consumen más, el consumo se evidencia en la tabla 8.

La ganancia de peso es mayor con el tipo de manejo costa hasta la última semana en donde desciende significativamente, esto se debe a que el organismo anatómicamente ya no está en condiciones de asimilar más alimento (3). Esto puede explicar el descenso abrupto en la ganancia de peso de estas aves.

CAPÍTULO IV: CONCLUSIONES

- La inclusión de selenio orgánico en concentraciones de 0,15 ppm y 0,30 ppm de Sel-Plex en la dieta, no aumenta la conversión de la hormona T4 a su forma activa T3, en pollos broilers.
- El peso de los pollos, consumo de alimento y ganancia de peso no se ven favorecidos al final de la crianza tras la inclusión adicional de selenio orgánico en concentraciones de 0,15 ppm y 0,30 ppm.
- El hematocrito en pollos de 42 días de edad alimentados con una dieta control + 0,15ppm de Se, es reducido significativamente comparado con la dieta control.
- El porcentaje de hematocrito, frecuencia cardiaca y saturación de oxígeno se ven gravemente afectadas en las aves al ser sometidos a diferentes tipos de manejo.
- La inclusión en la dieta de Se adicional en concentraciones de 0,15ppm y 0,30ppm no mejora la captación de oxígeno en el animal.

CAPÍTULO V: RECOMENDACIONES

Al analizar los datos obtenidos de la medición de las hormonas T4 y T3 se obtuvo coeficientes de variación entre muestras del mismo tratamiento de aproximadamente 25%, lo que nos hace suponer que la técnica de ELISA no es la más adecuada para este tipo de mediciones, por lo que se recomienda realizar las mediciones por medio de Radioinmunoensayo (RIA).

Es recomendable realizar ensayos, comparando selenio orgánico de diferentes casas comerciales, esto ayudaría a obtener una información global acerca de los beneficios que presenta este mineral.

RESUMEN

El presente trabajo de investigación tiene como objetivo relacionar la ingesta de selenio orgánico, aspectos hormonales, y parámetros sanguíneos. Específicamente de las hormonas tiroideas ya que se piensa están involucradas en el control de la tasa metabólica y disposición de oxígeno, por tanto reduciendo la incidencia de ascitis en pollos broiler. El selenio es parte de la estructura de una selenoproteína llamada deiodinasa, la cual está involucrada en la conversión de la tiroxina (T4) a la forma activa triiodotironina (T3) (Arthur, 1990). La concentración de T3 circulante está positivamente correlacionada con el consumo de oxígeno, (Bobek, 1997).

Además es la principal hormona estimulante metabólica (McNabb and King, 1993). La crianza de pollos en la altura está muy relacionada con la presencia de fenómenos de ascitis a través de varios mecanismos como: consumo de oxígeno, menor capacidad de producción de hormonas tiroideas, alteraciones en parámetros sanguíneos (hematocrito, oximetría y frecuencia cardíaca). Esto se lo puede comprobar al estudiar la relación entre la crianza en la altura y el síndrome de ascitis.

El fin del proyecto es de que a través de la ingesta de selenio ya sea de fuente inorgánica u orgánica incrementar la actividad de la proteína deiodinasa que a su vez va a producir más triiodotironina T₃, aumentando así positivamente el consumo de oxígeno en el ave, reduciendo de esta forma la incidencia de ascitis.

Palabras claves: Ascitis, Tiroxina, Triiodotironina, Selenio

ABSTRACT

This investigation project has as aim to relate the ingestion of organic selenium, with hormonal, blood parameters and metabolic aspects, specifically with the thyroid hormones because these hormones can be involved in the control of the metabolic rate reducing the incidence of ascitis in broiler chicken.

The selenium is part of the formation seleno-protein named Deiodinase, which is involved in the conversion of the thyroxine (T4) to the active form triiodothyronine (T3). (Arthur, 1990). The concentration of circulating T3 is positively correlated with the consumption of oxygen (Bobek, 1997). Furthermore is the main metabolic stimulating hormone (McNabb and King, 1993). Breeding of chickens in highland has a relation with ascitis phenomenon, through many mechanisms; consumption of oxygen, minor capacity of Thyroid hormones production, disturbed of blood parameters (hematocrite, oxygen saturation and cardiac frequency). It is probed easily by studying the relationship between low temperatures of breeding and cardiac rate of Ascitis

The aim of this project is that through the ingestion of selenium of organic or inorganic sources increase the activity of the Deiodinase protein that will produce more triiodothyronine (T3), increasing in this way positively the consumption of oxygen in the poultry, reducing the incidence of ascitis.

Key words: Ascitis, thyroxine, triiodothyronine, selenio

Tabla 7. Efecto del tipo de manejo y concentración de selenio en el peso corporal de las aves a diferentes

	Peso corporal (g)						
	D'a 1	D'a 7	D'a 14	D'a 21	D'a 28	D'a 35	D'a 42
Tipo de Manejo							
Costa	42,55 ± 0,40	153,52 ± 4,94 ^a	409,11 ± 10,46 ^b	834,50 ± 21,34 ^c	1380,53 ± 26,41 ^d	2085,39 ± 47,69 ^e	2588,91 ± 105,69 ^f
Sierra	42,57 ± 0,50	135,26 ± 4,11 ^b	298,18 ± 6,63 ^c	575,95 ± 12,53 ^d	931,86 ± 9,99 ^e	1351,18 ± 22,93 ^f	1950,12 ± 29,82 ^g
Concentración de selenio							
Control	42,46 ± 0,41	141,78 ± 10,56 ^a	348,23 ± 57,45 ^b	698,29 ± 132,34	1147,12 ± 230,46	1717,89 ± 387,42	2268,55 ± 338,02
Control + 0,15 ppm	42,60 ± 0,37	145,85 ± 8,95 ^b	357,21 ± 58,94 ^b	713,56 ± 138,10	1158,68 ± 238,45	1720,18 ± 386,07	2289,14 ± 367,45
Control + 0,30 ppm	42,63 ± 0,60	145,54 ± 11,39 ^{ab}	355,49 ± 57,88 ^{ab}	703,83 ± 134,99	1162,80 ± 231,75	1716,79 ± 374,90	2250,85 ± 313,18
	Probabilidad						
Fuente de Variación							
Tipo de manejo	0,894	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
Concentración de selenio	0,576	0,029	0,015	0,067	0,100	0,973	0,405
Manejo x selenio	0,079	0,562	0,857	0,653	0,497	0,729	0,073

Los datos de este cuadro representan las medias ± desviación estándar.

^{a,b} Los valores con diferentes exponentes representan diferencias entre medias de las columnas. (P<0,05)

Tabla 8. Efecto del tipo de manejo y concentraci—n de selenio en el consumo semanal de alimento por ave

	Consumo semanal de alimento por ave (g)						
	Semana 1	Semana 2	Semana 3	Semana 4	Semana 5	Semana 6	Total
Tipo de Manejo							
Costa	122,64 ± 3,33 ^a	337,47 ± 10,29 ^a	585,91 ± 7,68 ^a	842,41 ± 18,62 ^a	1115,37 ± 32,47 ^a	1158,90 ± 56,11 ^a	4169,05 ± 81,13 ^a
Sierra	110,99 ± 10,71 ^b	248,62 ± 2,24 ^b	417,21 ± 11,46 ^b	596,59 ± 19,91 ^b	790,34 ± 0,69 ^b	1046,81 ± 0,74 ^b	3210,62 ± 25,85 ^b
Concentracion de selenio							
Control	115,01 ± 11,58	293,07 ± 47,69	503,50 ± 86,25	720,79 ± 140,70	963,29 ± 180,15	1079,34 ± 53,05 ^b	3674,93 ± 495,39
Control + 0,15 ppm	118,81 ± 4,35	293,82 ± 47,58	499,26 ± 91,45	719,96 ± 123,99	947,72 ± 165,49	1107,99 ± 69,17 ^{ab}	3687,64 ± 496,54
Control + 0,30 ppm	116,61 ± 11,93	292,24 ± 44,80	501,93 ± 86,40	717,75 ± 121,55	947,56 ± 164,11	1121,24 ± 80,02 ^a	3706,93 ± 510,46
	Probabilidad						
Fuente de Variaci—n							
Tipo de manejo	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
Concentracion de selenio	0,4519	0,86494	0,52429	0,90651	0,098503	0,004919	0,390083
Manejo x selenio	0,3031	0,67767	0,47023	0,05736	0,10765	0,005079	0,733696

Los datos de este cuadro representan las medias ± desviaci—n estandar.

^{a,b} Los valores con diferentes exponentes representan diferencias entre medias de las columnas. (P<0,05)

Tabla 9. Efecto del tipo de manejo y concentración de selenio en la ganancia de peso

	Ganancia de peso (g)					
	D'a 1 - 7	Dia 8 - 14	D'a 15 - 21	Dia 16 - 28	D'a 29 - 35	D'a 36 - 42
Tipo de Manejo						
Costa	110,96 ± 5,12 ^a	255,59 ± 6,59 ^a	425,39 ± 13,30 ^f	546,03 ± 16,82 ^a	704,85 ± 43,52 ^a	522,57 ± 37,57 ^b
Sierra	92,69 ± 4,11 ^b	162,92 ± 5,42 ^b	277,78 ± 8,98 ^b	355,91 ± 11,22 ^b	419,32 ± 24,06 ^b	598,93 ± 26,34 ^c
Concentración de selenio						
Control	99,32 ± 10,41 ^a	206,45 ± 47,30	350,06 ± 75,37	448,83 ± 99,25 ^{ab}	570,77 ± 163,05	550,66 ± 63,38
Control + 0,15 ppm	103,25 ± 8,94 ^b	211,36 ± 50,41	356,35 ± 79,38	445,12 ± 100,7 ^b	561,50 ± 148,94	568,96 ± 34,14
Control + 0,30 ppm	102,91 ± 11,73 ^b	209,95 ± 47,51	348,34 ± 77,29	458,97 ± 98,59 ^a	553,99 ± 144,01	562,63 ± 50,79
	Probabilidad					
Fuente de Variación						
Tipo de manejo	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
Concentración de selenio	0,045	0,081	0,153	0,030	0,473	0,273
Manejo x selenio	0,553	0,294	0,605	0,839	0,720	0,025

Los datos de este cuadro representan las medias ± desviación estándar.

^{a,b} Los valores con diferentes exponentes representan diferencias entre medias de las columnas. (P<0,05)

3.2. Parámetros sanguíneos

3.2.1. Hematocrito

En el día 1 no se reportó diferencias ($P < 0,05$) en los factores tipo de manejo y concentración de selenio, en el día 11 no se existe diferencia entre el tipo de manejo costa y tipo de manejo sierra, pero si existe diferencia significativa en los niveles de concentración de selenio, obteniendo niveles más bajos de % hematocrito las dietas que contienen selenio. A partir del día 21 hasta el día 41 se mantiene más bajo el % hematocrito en el tipo de manejo sierra comparado al tipo de manejo costa. Desde el día 31 hasta el día 41 se obtuvo % de hematocrito bajos significativamente ($P < 0,05$) en las dietas que contienen selenio, (tabla 10).

El alimento influye directamente en el estado metabólico y fisiológico de los pollos. En este experimento se analizó el efecto del tipo de manejo y concentración de selenio en parámetros sanguíneos tales como porcentaje de hematocrito, saturación de oxígeno, frecuencia cardiaca. El efecto del selenio en el porcentaje de hematocrito se ve afectado al ser reducido significativamente ($P < 0,05$) con una dieta control + 0,15ppm de selenio, esta tendencia se la visualiza desde la segunda semana de crianza.

Luger (2001), reporta que en pollos que presentan ascitis el hematocrito es extremadamente elevado comparado con los pollos control, en otro estudio realizado por Luger (2003), menciona que la elevación del porcentaje de hematocrito se atribuye a un incremento de glóbulos rojos causado por la demanda de oxígeno en el organismo, pero el demuestra que estos glóbulos rojos se encuentran inmaduros por lo que no contrarrestan la demanda de oxígeno del pollo.

En el estudio realizado la inclusión de selenio logra reducir el % de hematocrito respecto al control hasta el final de la crianza, esto se debe a que el selenio forma parte de un complejo enzimático llamado glutatión peroxidasa que impide el estrés oxidativa en células como los eritrocitos.

Tabla 10. Efecto del tipo de manejo y concentraci—n de selenio en el porcentaje de hematocrito de las aves en diferentes edade

% Hematocrito aves					
	D'a 1	D'a 11	D'a 21	D'a 31	D'a 41
Tipo de Manejo					
Costa	33,35 ± 1,48	33,33 ± 2,11	37,77 ± 1,97 ^b	36,26 ± 2,76 ^b	36,88 ± 2,81 ^b
Sierra	34,18 ± 2,38	32,57 ± 1,24	33,38 ± 1,32 ^a	31,80 ± 1,24 ^a	30,36 ± 1,96 ^a
Concentracion de selenio					
Control	34,25 ± 1,91	34,13 ± 1,54 ^b	36,05 ± 2,61	34,70 ± 2,56 ^b	34,95 ± 3,78 ^b
Control + 0,15 ppm	33,70 ± 2,18	32,71 ± 1,37 ^a	35,04 ± 2,31	32,84 ± 2,136 ^a	32,60 ± 3,25 ^a
Control + 0,30 ppm	33,35 ± 1,99	32,02 ± 1,71 ^a	35,64 ± 3,39	34,57 ± 4,08 ^{ab}	33,32 ± 4,95 ^{ab}
	Probabilidad				
Fuente de Variaci—n					
Tipo de manejo	0,2835	0,1139	<0,001	<0,001	<0,001
Concentracion de selenio	0,6272	0,0028	0,28003	0,02957	0,025188
Manejo x selenio	0,7894	0,4356	0,39332	0,18207	0,205457

Los datos de este cuadro representan las medias ± desviaci—n estandar.

^{a,b} Los valores con diferentes exponentes representan diferencias entre medias de los factores de la misma edad. (P<0,05)

3.2.2. Saturación de oxígeno

El porcentaje de saturación de oxígeno de las aves sometidas al tipo de manejo sierra es significativamente mayor en toda la crianza, no existió diferencia entre niveles de concentración de selenio, (tabla 11). Las aves sometidas a un régimen alimenticio exigente como es en este caso el tipo de manejo costa, requieren de una mayor cantidad de oxígeno para realizar todos los procesos metabólicos; es por esto que la saturación de oxígeno de los pollos que se encuentran en el manejo costa presentan un descenso comparado con los pollos del manejo sierra. Luger (2007) reportó que los pollos con ascitis poseen una menor saturación de oxígeno que las aves control

3.2.3. Frecuencia cardiaca

La tabla 12 reporta que las aves del manejo sierra presentan en los días 31 y 41 una mayor frecuencia cardiaca comparada a las aves del manejo costa, referente a la concentración de selenio el día 31 existe diferencia obteniendo una mayor frecuencia cardiaca las aves que fueron alimentadas con una dieta control + 0,15ppm de Se. El aumento de hematocrito en las aves del manejo costa a partir del día 31, ocasiona en la sangre un aumento de la viscosidad, esto dificulta su paso a través del corazón y del organismo, lo que reduce significativamente la frecuencia cardiaca. Maxwell (1992), corrobora esta información al estudiar la viscosidad de la sangre en pollos normales y en pollos que tienen ascitis.

3.2.4. Hormonas tiroideas

Se analizó las hormonas tiroideas, tiroxina (T4) y triiodotironina (T3), los días 28 y 42 de la crianza de las aves, no se reportó diferencias significativas en tipo de manejo ni en concentración de selenio, la tabla 13 indica los resultados obtenidos. Yahav (2001), reporta diferencias en la concentración de T4 y T3 en aves sanas comparadas con aves que tienen ascitis. Siendo menor la concentración de ambas en pollos con ascitis.

Tabla 11. Efecto del tipo de manejo y concentraci—n de selenio en el porcentaje de saturaci—n de ox'geno de las aves

	Porcentaje de saturaci—n de ox'geno (%)				
	D'a 1	D'a 11	D'a 21	D'a 31	D'a 41
Tipo de Manejo					
Costa	89,67 ± 1,80 ^a	78,67 ± 3,29 ^b	76,71 ± 2,62 ^b	76,36 ± 2,81 ^b	75,48 ± 3,50 ^b
Sierra	87,08 ± 3,00 ^b	83,90 ± 2,38 ^a	82,06 ± 2,09 ^a	83,12 ± 2,54 ^a	84,74 ± 2,35 ^a
Concentracion de selenio					
Control	88,40 ± 2,13	81,59 ± 4,46	79,91 ± 4,13	80,14 ± 4,01	79,86 ± 7,20
Control + 0,15 ppm	87,75 ± 3,71	81,26 ± 2,64	79,29 ± 3,04	79,25 ± 4,61	80,11 ± 5,12
Control + 0,30 ppm	88,98 ± 2,35	81,00 ± 4,52	78,96 ± 3,69	79,82 ± 4,62	80,36 ± 4,31
	Probabilidad				
Fuente de Variaci—n					
Tipo de manejo	0,009	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
Concentracion de selenio	0,553	0,862	0,562	0,696	0,896
Manejo x selenio	0,290	0,190	0,190	0,995	0,022

Los datos de este cuadro representan las medias ± desviaci—n estandar.

^{a,b} Los valores con diferentes exponentes representan diferencias entre medias de los factores de la misma edad. (P<0,05)

Tabla 12. Efecto del tipo de manejo y concentración de selenio en la frecuencia cardíaca de las aves en diferentes edades.

	Frecuencia Cardíaca latidos/m in				
	D'a 1	D'a 11	D'a 21	D'a 31	D'a 41
Tipo de Manejo					
Costa	424,80 ± 10,7 ^a	476,12 ± 12,23	450,30 ± 13,45	396,26 ± 17,26 ^b	369,77 ± 13,53 ^b
Sierra	409,33 ± 16,43 ^b	477,72 ± 12,88	451,50 ± 13,11	417,71 ± 16,08 ^a	407,65 ± 9,77 ^a
Concentración de selenio					
Control	415,53 ± 12,79	475,98 ± 15,54	446,89 ± 9,46	397,43 ± 20,93 ^b	384,89 ± 24,67
Control + 0,15 ppm	416,53 ± 16,26	478,72 ± 12,39	454,91 ± 15,47	414,34 ± 16,89 ^a	392,58 ± 21,29
Control + 0,30 ppm	419,15 ± 19,03	476,06 ± 9,33	450,90 ± 13,44	409,20 ± 18,52 ^{ab}	388,66 ± 22,22
			Probabilidad		
Fuente de Variación					
Tipo de manejo	0,008	0,693	0,768	<0,001	<0,001
Concentración de selenio	0,851	0,818	0,281	0,020	0,229
Manejo x selenio	0,750	0,614	0,282	0,514	0,328

Los datos de este cuadro representan las medias ± desviación estándar.

^{a,b} Los valores con diferentes exponentes representan diferencias entre medias de los factores de la misma edad. (P<0,05)

Tabla 13. Efecto del tipo de manejo y concentración de selenio en la concentración de T4 y T3 de las aves en diferentes edades

	Hormonas Tiroides ng/ml				
	Tiroxina		Triiodotironina		T3/T4
	D'a 28	D'a 42	D'a 28	D'a 42	
Tipo de Manejo					
Costa	12,61 ± 3,38	5,33 ± 1,54	1,53 ± 0,65	1,12 ± 0,39	0,121 ± 0,035
Sierra	13,34 ± 2,36	5,32 ± 1,58	1,30 ± 0,64	1,11 ± 0,50	0,100 ± 0,051
Concentración de selenio					
Control	12,01 ± 3,18	5,24 ± 1,36	1,31 ± 0,60	0,94 ± 0,27	0,111 ± 0,050
Control + 0,15 ppm	13,91 ± 2,43	5,61 ± 1,77	1,53 ± 0,59	1,18 ± 0,39	0,109 ± 0,033
Control + 0,30 ppm	13,00 ± 2,94	5,12 ± 1,56	1,41 ± 0,76	1,22 ± 0,58	0,111 ± 0,051
	Probabilidad				
Fuente de Variación					
Tipo de manejo	0,420	0,271	0,992	0,941	0,142
Concentración de selenio	0,240	0,690	0,709	0,160	0,993
Manejo x selenio	0,569	0,678	0,901	0,063	0,946

Los datos de este cuadro representan las medias ± desviación estándar.

^{a,b} Los valores con diferentes exponentes representan diferencias entre medias de los factores de la misma edad. (P<0,05)

3.3. Mortalidad

3.3.1. Mortalidad total

Los animales sometidos al tipo de manejo costa obtuvieron una mortalidad total de 19,81% comparado a los animales sometidos al tipo de manejo sierra que obtuvieron una mortalidad total de 2,76%. En la sexta semana que corresponde a la última semana de crianza de las aves, se registró la mayor mortalidad en el manejo costa alcanzando un porcentaje de 8,10. Los animales que fueron alimentados con una dieta control + 0,15 ppm de Se, la mortalidad fue de 13%. Comparado con la dieta control que la mortalidad fue de 10,71%. En la tabla 14 se visualiza la mortalidad semanal y total de las aves.

3.3.2. Mortalidad causado por el síndrome de ascitis

La mortalidad causada por ascitis en el tipo de manejo costa es de 13,14%, en el tipo de manejo sierra es de 0,10%, se registra mortalidad causada por ascitis desde la tercera semana, siendo la sexta semana en donde existe mayor mortalidad. La tabla 15 muestra los porcentajes de mortalidad causados por ascitis semanalmente y la mortalidad total. Los pollos alimentados con una dieta control + 0,30 ppm de Se, registran una mortalidad del 5,57% la cual es menor que el control que obtuvo una mortalidad del 6,86%.

Yahav (2001), al realizar un estudio de ascitis, induciendo este desorden metabólico de dos formas distintas, la primera exponiendo a los pollos a bajas temperaturas, la segunda supliendo a los pollos con alimento paletizado, obtuvo mortalidades por ascitis de 24,3 y 24,2% respectivamente, hasta la séptima semana de crianza.

Al relacionar el peso del ave, el consumo de alimento, hematocrito, frecuencia cardiaca, saturación de

Tabla 14. Efecto del tipo de manejo y concentraci—n de selenio en el porcentaje de mortalidad total

	Porcentaje de mortalidad total semanal						Total
	1	2	3	4	5	6	
Tipo de Manejo							
Costa	1,42 n=15/1050	1,52 n=16/1050	3,23 n=34/1050	2,85 n=30/1050	2,66 n=28/1050	8,10 n=85/1050	19,81 n=208/1050
Sierra	0,86 n=9/1050	0,57 n=6/1050	0,57 n=6/1050	0,38 n=4/1050	0,00 n=0/1050	0,38 n=4/1050	2,76 n=29/1050
Concentracion de selenio							
Control	0,85 n=6/700	0,42 n=3/700	1,28 n=9/700	0,86 n=6/700	1,71 n=12/700	5,57 n=39/700	10,71 n=75/700
Control + 0,15 ppm	1,28 n=9/700	1,57 n=11/700	2,86 n=20/700	2,00 n=14/700	1,14 n=8/700	4,14 n=29/700	13,00 n=91/700
Control + 0,30 ppm	1,28 n=9/700	1,14 n=8/700	1,57 n=11/700	2,00 n=14/700	1,14 n=8/700	3,00 n=21/700	10,14 n=71/700

Tabla 15. Efecto del tipo de manejo y concentraci—n de selenio en el porcentaje de mortalidad causada por el síndrome de asci

	Porcentaje de mortalidad total semanal						Total
	1	2	3	4	5	6	
Tipo de Manejo							
Costa	0,10 n=1/1050	0,00 n=0/1050	1,24 n=13/1050	2,10 n=22/1050	2,29 n=24/1050	7,43 n=78/1050	13,14 n=138/1050
Sierra	0,00 n=0/1050	0,00 n=0/1050	0,00 n=0/1050	0,00 n=0/1050	0,10 n=1/1050	0,00 n=0/1050	0,10 n=1/1050
Concentracion de selenio							
Control	0,00 n=0/700	0,00 n=0/700	0,14 n=1/700	0,57 n=4/700	1,57 n=11/700	4,57 n=32/700	6,86 n=48/700
Control + 0,15 ppm	0,00 n=0/700	0,00 n=0/700	0,86 n=6/700	1,43 n=10/700	1,00 n=7/700	4,00 n=28/700	7,29 n=51/700
Control + 0,30 ppm	0,14 n=1/700	0,00 n=0/700	0,86 n=6/700	1,14 n=8/700	0,86 n=6/700	2,57 n=18/700	5,57 n=39/700

oxígeno, se puede visualizar que poseen algún tipo de relación ya que por ejemplo al aumentar el consumo de alimento, existe un incremento en el % de hematocrito y a su vez una reducción de la saturación de oxígeno y de la frecuencia cardiaca.

