

**UNIVERSIDAD NACIONAL**  
**“PEDRO RUIZ GALLO”**  
**FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA**



**TESIS**  
**PARA OPTAR EL TITULO PROFESIONAL DE**  
**MÉDICO VETERINARIO**

**EFFECTO DE HARINA DE SEMILLA DE MANGO (*Mangifera indica*  
*L.*) EN LA MORFOLOGÍA INTESTINAL EN POLLOS COBB 500**

**Investigador: Bach. M.V. Damián Martínez Ronald Javier**

**Asesor: MV. MSc. Edgar Vásquez Sánchez**

**LAMBAYEQUE – PERÚ, 2019**

**EFFECTO DE HARINA DE SEMILLA DE MANGO (*Mangifera indica L.*) EN LA  
MORFOLOGÍA INTESTINAL EN POLLOS COBB 500**

**TESIS PRESENTADA PARA OBTENER EL TITULO PROFESIONAL DE  
MÉDICO VETERINARIO**

**PRESENTADA POR**

**Damián Martínez Ronald Javier**

**PRESENTADA Y APROBADA ANTE EL SIGUIENTE JURADO:**

---

**M.V.MSc. VICENTE GONZALES JULCA  
PRESIDENTE**

---

**M.V.MSc. CESAR AUGUSTO PISCOYA VARGAS  
SECRETARIO**

---

**MV.ADRIANO CASTAÑEDA LARREA  
VOCAL**

---

**MV. MSc. EDGAR VÁSQUEZ SÁNCHEZ  
ASESOR**

## DEDICATORIA

Este proyecto de tesis está dedicado a mi familia que, con su apoyo, comprensión y perseverancia me impulsan para ser mejor día a día y así seguir cumpliendo mis objetivos.

Este proyecto de tesis está dedicado a mi Madre que, con su apoyo, comprensión y perseverancia me impulsan para ser mejor día a día y así seguir cumpliendo mis objetivos.

*Ronald Javier Damián Martínez*

## **AGRADECIMIENTO**

Agradezco a Dios por darme siempre las fuerzas para continuar en lo adverso, por guiarme y darme sabiduría en situaciones difíciles.

Agradezco también a mi asesor MV.M.Sc Edgar Vásquez Sánchez y MV. Gianfranco Chiroque Bravo, por su apoyo con su capacidad y conocimientos para la realización de mi proyecto de tesis.

Agradezco también a M.V. Elsa Graciela Chavil Montalván por su ayuda en la lectura de láminas histológicas y permitirme concluir mi tesis en la parte práctica.

# INDICE

DEDICATORIA .....	i
AGRADECIMIENTO .....	ii
INDICE .....	iii
INDICE DE FIGURAS .....	vi
RESUMEN.....	viii
ABSTRACT .....	ix
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. REVISION BIBLIOGRAFICA .....	4
2.1. ANTECEDENTES. ....	4
2.2. BASE TEORICA.....	8
2.1.1. Tracto gastrointestinal en aves.....	8
2.1.2. Anatomía del tracto gastrointestinal en aves .....	11
2.1.3. Desarrollo de las vellosidades intestinales en el pollo.....	16
2.1.4. Histología del Intestino delgado y grueso.....	19
2.1.4.1. Histología del intestino delgado.....	20
2.1.4.2. Histología del intestino grueso.....	28
2.1.5. Mango (Mangífera indica L.) .....	32
2.1.5.1. Composición de harina de semilla de mango .....	32
2.1.5.2. Efectos del procesamiento sobre el contenido Factores antinutricionales (ANF) de harina de semilla de mango (HSM). ....	34
2.1.5.3. Alimentación en pollos de engorde. ....	34
III. MATERIALES Y MÉTODOS.....	37
3.1. MATERIALES .....	37
3.1.1. MATERIAL BIOLOGICO .....	37
3.1.2. MATERIAL DE LABORATORIO.....	37
3.2. DISEÑO METODOLOGICO.....	38
3.2.1. Lugar de estudio .....	38
3.2.2. Adecuación del galpón. ....	38
3.2.3. Procesamiento de semilla de mango .....	39
3.2.4. Análisis bromatológico de harina de semilla de mango .....	40
3.2.5. Necropsia.....	43
3.2.6. Histotecnología .....	45

<b>3.2.7. Integridad epitelial intestinal.</b>	49
<b>IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>	51
<b>V. CONCLUSIONES</b>	71
<b>VI. RECOMENDACIONES</b>	73
<b>VII. LISTA DE REFERENCIA</b>	74
<b>VIII. ANEXOS</b>	80

## INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Dimensiones del sistema digestivo aves de producción.....	13
Tabla 2 Composición proximal de harina de semilla de mango (HSM), maíz y gramos de sorgo (g / 100 g de MS).....	32
Tabla 3. Perfil de aminoácidos esenciales de harina de semilla de mango (HSM), maíz, gramos de sorgo y harina de soya.....	33
Tabla 4. Análisis bromatológico de harina de semilla de mango.....	41
Tabla 5. Composición, aporte y costo de las dietas en la fase de Inicio de pollos Cobb 500.....	41
Tabla 6. Composición, aporte y costo de las dieta en la fase de Crecimiento de pollos Cobb 500.....	44
Tabla 7. Composición, aporte y costo de las dieta en la fase de Engorde de pollos Cobb 500.....	42
Tabla 8. Etapas de deshidratación para el proceso de láminas histológicas.....	46

## INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Esquema de la estructura del tracto digestivo de las aves.....	14
Figura 2. Tipo de vellosidades en pollos de engorde.....	17
Figura 3. Criptas en diferentes etapas de desarrollo.....	18
Figura 4. Intestino delgado (íleon) de las aves. Coloración H-E. 100x.....	20
Figura 5. Corte histológico de una vellosidad de íleon.....	22
Figura 6. Epitelio de las vellosidades a través del método histoquímico de Pass.....	23
Figura 7. Linfocitos en el epitelio de vellosidades.....	24
Figura 8. Células de Paneth (▼) en el epitelio de las criptas.....	25
Figura 9. Folículos linfoides en la membrana de la submucosa.....	26
Figura 10. Capa Muscularis mucosae del íleon.....	27
Figura 11. Intestino grueso (ciego) de las aves.....	29
Figura 12. Mapa satelital del lugar de estudio: Túcume – Lambayeque.....	38
Figura 13. Instalación del galpón experimental.....	39
Figura 14. Proceso de hervido en semillas de mango.....	39
Figura 15. Almacenaje y secado de semillas de mango.....	40
Figura 16. Molienda de semilla de mango.....	40
Figura 17. Necropsia de los pollos Cobb 500 alimentados con diferentes niveles de Harina de semilla de Mango (HSM).....	44
Figura 18. Segmentos intestinales de los pollos Cobb 500 alimentados con diferentes niveles de Harina de semilla de Mango (HSM).....	45
Figura 19. Microfotografía transversal del Duodeno en Pollos Cobb 500 alimentados con diferentes niveles de Harina de Semilla de Mango (HSM), en el día 7.....	54
Figura 20. Microfotografía transversal del Duodeno en Pollos Cobb 500 alimentados con diferentes niveles de Harina de Semilla de Mango (HSM), en el día 22.....	56

Figura 21. Microfotografía transversal del Duodeno en Pollos Cobb 500 alimentados con diferentes niveles de Harina de Semilla de Mango (HSM), en el día 42.....	58
Figura 22. Microfotografía transversal de Yeyuno en Pollos Cobb 500 alimentados con diferentes niveles de Harina de Semilla de Mango (HSM), en el día 7.....	59
Figura 23. Microfotografía transversal de Yeyuno en Pollos Cobb 500 alimentados con diferentes niveles de Harina de Semilla de Mango (HSM), en el día 22.....	61
Figura 24. Microfotografía transversal de Yeyuno en Pollos Cobb 500 alimentados con diferentes niveles de Harina de Semilla de Mango (HSM), en el día 42.....	62
Figura 25. Microfotografía transversal de Íleon en Pollos Cobb 500 alimentados con diferentes niveles de Harina de Semilla de Mango (HSM), en el día 7.....	63
Figura 26. Microfotografía transversal de Íleon en Pollos Cobb 500 alimentados con diferentes niveles de Harina de Semilla de Mango (HSM), en el día 22.....	64
Figura 27. Microfotografía transversal de Íleon en Pollos Cobb 500 alimentados con diferentes niveles de Harina de Semilla de Mango (HSM), en el día 42.....	65
Figura 28. Microfotografía transversal de Ciegos en Pollos Cobb 500 alimentados con diferentes niveles de Harina de Semilla de Mango (HSM), en el día 7.....	67
Figura 29. Microfotografía transversal de Ciegos en Pollos Cobb 500 alimentados con diferentes niveles de Harina de Semilla de Mango (HSM), en el día 22.....	68
Figura 30. Microfotografía transversal de Ciegos en Pollos Cobb 500 alimentados con diferentes niveles de Harina de Semilla de Mango (HSM), en el día 42.....	69

## RESUMEN

Se evaluó la morfología intestinal en pollos Cobb 500 alimentados con diferentes niveles de Harina de semilla de mango (*Mangifera indica L.*); secadas a temperatura ambiente, sin tratamiento químico, físico o biológico en un galpón experimental en raciones isoproteicas e isoenergeticas, en el distrito de Túcume - Lambayeque; utilizando 192 pollos; sacrificándolos los días 7, 22 y 42 sometidas en ayuno previo; se recolectó muestras del duodeno, yeyuno, íleon y ciego en frascos estériles con formol al 10% y llevadas al laboratorio de patología del Hospital Regional Lambayeque para realizar los cortes histológicos y la lectura se llevó acabo en el laboratorio de Histología de la Facultad de Medicina Veterinaria- UNPRG. Se encontró que los segmentos intestinales como el duodeno, yeyuno, íleon y ciego de los pollos que consumieron una dieta con el 25% de semilla de harina de Mango (HSM) tuvo mejor efecto, no observándose alteraciones en su mucosa, criptas y vellosidades (Grado 0) es decir sin alteraciones morfológicas, en los días 7, 22 y 42; denotándose que en el duodeno las vellosidades fueron dispuestas en zig-zag característica de un buen estado de salud; sin embargo se observo destrucción completa de la arquitectura de las vellosidades en el grupo de 50% HSM (grado 3) de todos los segmentos evaluados.

**Palabras clave:** Harina de semilla de mango (HSM), pollos Cobb 500, morfología intestinal, salud intestinal

## ABSTRACT

Intestinal morphology was evaluated in Cobb 500 chickens fed different levels of mango seed meal (*Mangifera indica* L.); dried at room temperature, without chemical, physical or biological treatment in an experimental shed in isoproteic and isoenergetic rations, in the district of Túcume - Lambayeque; using 192 chickens; sacrificing them on days 7, 22 and 42 subjected to prior fasting; samples of the duodenum, jejunum, ileum and blind were collected in sterile bottles with 10% formalin and taken to the pathology laboratory of the Lambayeque Regional Hospital to perform histological cuts and the reading was carried out in the Histology laboratory of the Faculty of Medicine Veterinary- UNPRG. It was found that the intestinal segments such as the duodenum, jejunum, ileum and blind of the chickens that consumed a diet with 25% of Mango flour (HSM) had a better effect, not being observed alterations in their mucosa, crypts and villi ( Grade 0) that is without morphological alterations, on days 7, 22 and 42; denoting that in the duodenum the villi were arranged in zig-zag characteristic of a good state of health; however, complete destruction of the villus architecture was observed in the 50% HSM group (grade 3) of all the segments evaluated.

**Keywords:** Mango seed meal (HSM), Cobb 500 chickens, intestinal morphology, intestinal health

## I. INTRODUCCIÓN

La eficiencia en la productividad de todos los animales de granja radica en el desarrollo y salud del tracto gastrointestinal <sup>(1)</sup>, debido a que el intestino, es un órgano complejo que forma parte del tracto gastrointestinal (TGI) y es el paso obligado de los nutrientes que sirven de base para el metabolismo celular, crecimiento y mantenimiento; además, aportan los recursos para el sistema inmunológico, sistema esquelético y nervioso <sup>(2)</sup>.

El sistema digestivo de las aves es anatómica y funcionalmente diferente al de otras especies animales. Incluso existen diferencias entre especies de aves, especialmente en tamaño, que en gran parte depende del tipo de alimento que consumen. Por ejemplo, aves que se alimentan de granos tienen un tracto digestivo de mayor tamaño que las carnívoras, y aquellas consumidoras de fibra poseen ciegos más desarrollados. El largo del sistema digestivo, en proporción al cuerpo, es inferior al de los mamíferos <sup>(3)</sup>. La mucosa intestinal está expandida debido a los extensos dobletes microscópicos que forman una recubierta con proyecciones de forma dactilar llamadas vellosidades. En el intestino aviar, las vellosidades existen a todo lo largo de los intestinos delgado y grueso (excepto en el ciego que tiene microvellosidades), encontrándose que la superficie de estas permita facilitar la absorción en la superficie de las células <sup>(4)</sup>.

El aprovechamiento sobre residuos orgánicos ha tomado importancia entre la comunidad científica y sobre todo a nivel industrial, debido a que los subproductos agro-industriales pueden ser útiles en otras actividades como por ejemplo en el sector pecuario<sup>(5,6)</sup>. Las ciudades generan cada vez más cantidad de residuos orgánicos siendo los depósitos finales botaderos a cielo abierto, constituyendo un problema para la salud pública, además los elevados volúmenes suponen importantes costos de recolección y disposición final. Por otro lado los residuos orgánicos presentan propiedades nutricionales, como recientemente se ha demostrado que los residuos de cítricos y otros frutos contienen antioxidantes y otras sustancia bioactivas que pueden tener un efecto benéfico en la salud animal en la mayoría de todo los sistemas de producción <sup>(6)</sup>.

Investigaciones señalan que el aceite de semilla de mango es una prometedora fuente de aceite comestible debido a su perfil de ácidos grasos y triglicéridos, similar a la de la manteca de cacao, además se puede utilizar como fuente de antioxidantes naturales por sus compuestos fenólicos y fosfolípidos<sup>(7)</sup> y por último presentan un poder antimicrobiano de amplio espectro, más eficaces contra bacterias Gram-positivas que contra las bacterias Gram-negativas<sup>(8)</sup>.

El mango, fruta redituable que ha ganado gran popularidad en todo el mundo y cada vez mayor importancia también en el mercado europeo; y en el Perú siendo los departamentos de mayor producción Piura y Lambayeque. Siendo sus principales residuos del procesamiento la cáscara y la semilla, los cuales corresponden al 35-60% del peso total del fruto<sup>(9)</sup>. Por lo tanto, considerando la importancia de la almendra de mango, se plantea la presente investigación, con la finalidad de analizar el efecto de harina de mango (*Mangífera indica* L.) en la morfología intestinal en pollos Cobb 500.

En la actualidad se presenta el gran desafío de dominar el dinamismo de la genética que modificó a las aves, siendo uno de los factores más exigentes, el aspecto nutricional. Para que las ponedoras expresen todo su potencial productivo, es necesaria la revisión constante de sus exigencias nutricionales, tanto en la fase de cría y levante como en la fase de producción<sup>(10)</sup>.

Similar a lo que ocurre con los sistemas termorregulador e inmunológico, el tracto digestivo de las aves sufre un proceso de maduración en la fase post eclosión para adaptarse al cambio en el tipo de nutrición; los lípidos de la yema son absorbidos y se debe realizar una rápida transición metabólica y fisiológica para ajustar su funcionamiento intestinal a una dieta rica en carbohidratos y aminoácidos. Por lo tanto, el sistema digestivo juega un papel decisivo en la determinación del potencial de desarrollo después de la eclosión, ya que la digestión de nutrientes, la absorción, la asimilación y la incorporación de tejidos en crecimiento y desarrollo, incluyendo, el músculo esquelético; dependen directamente de la integralidad estructural y funcional del tracto gastrointestinal<sup>(11)</sup>.

El suministro de un producto de nutrición temprana que proporcione los nutrientes necesarios para las aves recién nacidas, durante las primeras horas post eclosión, tiene efectos directos en el mejoramiento de la maduración nutricional del ave, estimulación de la utilización del residuo vitelino, incremento del desarrollo intestinal y efectos metabólicos a largo plazo.<sup>(12)</sup>

El objetivo principal de este trabajo fue determinar si existían o no diferencias entre las características alométricas y morfométricas de diversas porciones del intestino delgado, así como en la alometría de las glándulas accesorias y proventrículo y molleja; de aves sometidas a tres- tratamientos de nutrición temprana.

## II. REVISION BIBLIOGRAFICA

### 2.1. ANTECEDENTES.

Ravindran and Sivakanesan<sup>(13)</sup> evaluaron el valor nutritivo de los granos de semillas de mango crudo ( *Mangifera indica* L) el cual contenían taninos (56.5 g kg<sup>-1</sup> de MS), glucósidos cianogénicos (64 mg kg<sup>-1</sup> de MS), oxalatos (42 mg kg<sup>-1</sup> de MS) y actividad inhibidora de la tripsina ( 20 TIU g<sup>-1</sup> DM). El contenido de estos factores antinutritivos se redujo mediante tratamientos de remojo y ebullición, pero la ebullición fue más efectiva. La digestibilidad de la proteína *in vitro* (26.3%) y la energía aparente metabolizable (7.88 MJ kg<sup>-1</sup>DM) los valores de los granos crudos fueron bajos, y estos parámetros se mejoraron remojando e hirviendo.

Moreno<sup>(14)</sup> evaluó la composición fisicoquímica de una harina integral elaborada a partir de los cotiledones de *Mangifera indica* L. Var. Bocado, se cosecharon en el estado Carabobo -Venezuela. Los cotiledones obtenidos se sometieron a secado parcial hasta alcanzar una humedad de 8,00% y posteriormente fueron molidos. Se evaluaron mediante las normas A.O.A.C. (1980) y los resultados fueron: humedad (9,61%), grasa bruta (3, 12%), fibra (2 ,68%), cenizas (2,64%), ELN (65 ,61%), proteína (Ni 6 ,25) 6, 16%), calcio (0, 14%), fósforo (0,090/o) y taninos (7,75%). El bajo valor de fibra sugiere la utilización de la harina integral para consumo animal, previo enriquecimiento con calcio, fósforo y proteínas.

Betancourt et al.,<sup>(15)</sup> determinaron el efecto del aceite de orégano sobre la digestibilidad intestinal en pollos de engorde. Los resultados obtenidos en las variables fueron: altura de la vellosidad intestinal, profundidad de la cripta, área de la vellosidad y la relación entre altura de la vellosidad y profundidad de la cripta en yeyuno. No se observaron tendencias claras en función de los diferentes grupos experimentales.

Pero cuando se hicieron análisis de correlación global entre estos parámetros con el peso corporal, se encontró una correlación significativa entre altura de la vellosidad en yeyuno a los 3 días con el peso corporal a los 14 días ( $r: 0.59, p<0.01$ ) y a los 42 días ( $r: 0.51, p<0.05$ ) y el área de la vellosidad de yeyuno con el peso a los 14 días ( $r: 0.59, p<0.01$ ) y a los 42 días ( $r: 0.56, p<0.01$ ). El peso corporal a los 21 días de edad mostró una correlación con la altura de la vellosidad y relación altura de la vellosidad: profundidad de cripta de yeyuno a los 14 días de edad ( $p<0.05$ ), mientras que el peso corporal a los 35 días se asoció con la vellosidad de Íleon a los 3 días de edad ( $p<0.05$ ).

Shiva *et al.*,<sup>(16)</sup> evaluaron el efecto de la adición en la dieta del aceite esencial de orégano (*Origanum vulgare*) en los parámetros productivos así como también en la salud intestinal en pollos machos Cobb 500 distribuidos aleatoriamente en cuatro tratamientos con cuatro repetición por grupo. Se obtuvieron muestras de intestino e hígado de cuatro aves por tratamiento el día 14 y dos por tratamiento el día 42 del ensayo para determinar posibles alteraciones histológicas por intoxicación y para determinar la histomorfometría de yeyuno. No hubo diferencias estadísticas en peso, consumo de alimento ni conversión alimenticia entre grupos experimentales. Las vellosidades del grupo alimentados con aceite esencial de orégano (AEO) presentaron una mayor longitud de vellosidades intestinales a los 42 días en cuanto a largo, ancho y profundidad con  $965 \pm 124$ ,  $87 \pm 20$  y  $49 \pm 13$   $\mu\text{m}$  respectivamente.

Gutiérrez<sup>(17)</sup> Determinó los parámetros morfométricos del duodeno de pollos de engorde después de la administración de una mezcla de probióticos. Las aves fueron divididas en cuatro grupos (1: control, 2: aves con administración de antibiótico, 3: aves suplementadas con probiótico y 4: aves con antibiótico más probiótico). Se evidenció el efecto positivo de los probióticos (particularmente sobre la profundidad de las criptas) o de los antibióticos (sobre el área de las vellosidades) ( $P<0.001$ ). El resultado en cuanto a la altura de las vellosidades se encontró que los rangos se mantuvieron entre 742.47 y 1818.3  $\mu\text{m}$  para el tratamiento 1, entre 700.66 y 1639.8  $\mu\text{m}$  en el tratamiento 2, 714.9 – 1654.2  $\mu\text{m}$  para el tratamiento 3, y 724.7 y 1596.1  $\mu\text{m}$  para el tratamiento 4. Para el ancho de las vellosidades se midió a nivel apical y basal. Los anchos apicales en el tratamiento 1 se ubicaron entre 65.7 – 329.64  $\mu\text{m}$ , en el tratamiento 2 entre 61.92 – 357.45  $\mu\text{m}$ , en el tratamiento 3 60.72 – 348.24 y entre 54.31 – 299.52  $\mu\text{m}$  para el tratamiento 4; para el ancho basal se dieron en un

rango de 85.26 a 398.39  $\mu\text{m}$  para el tratamiento 1, 92.32 a 550.14  $\mu\text{m}$  en el tratamiento 2, 68.69 a 389.77  $\mu\text{m}$  para el tratamiento 3 y finalmente 99.10 a 398.32  $\mu\text{m}$  para el tratamiento 4. Para el área de las vellosidades varió en cada uno de los tratamientos, encontrando que en el tratamiento 1 los rangos estuvieron entre 102147 – 395630  $\mu\text{m}$ , el tratamiento 2 entre 100314 – 397487  $\mu\text{m}$ , el tratamiento 3 entre 101603 - 352149  $\mu\text{m}$  y el tratamiento 4 entre 100650 – 374819  $\mu\text{m}$ . En cuanto a la profundidad de las criptas de Lieberkühn se encontró que en el tratamiento 1 los valores se ubicaron en un rango de 96.3 y 474.21  $\mu\text{m}$ , en el tratamiento 2 entre 55.38 y 479.72  $\mu\text{m}$ , en el tratamiento 3 los rangos fueron de 62.51 a 441.52  $\mu\text{m}$  y en el tratamiento 4 entre 107.79 y 474.87  $\mu\text{m}$ . También se describió el daño epitelial que sufren las paredes de la mucosa tras la acción de los diferentes aditivos suministrados, que puede manifestarse en necrosis de las vellosidades intestinales y destrucción y pérdida de los enterocitos, provocando una reposición celular forzada. Basados en esta información, en el tratamiento 1 se evidenció presencia de bacilos e hiperplasia epitelial. En el tratamiento 2 se observaron más bacterias en comparación con el tratamiento 1 y se observó un aumento en la celularidad. El tratamiento 3 se observó una aparente reducción de bacterias y su epitelio se vio mejor definido, con presencia de linfocitos y un mayor número de infiltraciones. Para finalizar, en el tratamiento 4 se observó menor presencia de bacterias en comparación con el tratamiento 3 y los enterocitos no se evidenciaron como células cilíndricas altas sino con una apariencia más pequeña.

Diarra *et al.*,<sup>(18)</sup> el valor de alimentación de harina de mango hervida en pollos de engorde se investigó usando 225 pollos de engorde Anak-2000 de un día a 63 días de edad. Las aves fueron asignadas al azar a 5 grupos / dietas con 3 réplicas de 15 aves cada una. Las dietas (iniciador y finalizador) contenían 0, 25, 50, 75 y 100% de harina de mango hervida como sustituto del maíz en las dietas 1, 2, 3, 4 y 5, respectivamente. El grano de mango se hirvió a 100 ° C durante 30 minutos. Los resultados mostraron una reducción significativa (87,26%) de tanino por ebullición. El crecimiento del pollo (ganancia diaria y relación de conversión alimenticia) se redujo cuando la inclusión excedió el 50% durante la fase de finalización; la depresión del crecimiento se observó solo por encima del 75% de reemplazo del maíz con el material de prueba. No hubo un efecto significativo del reemplazo en los parámetros de carcasa medidos. Un total de 7 aves (1, 3, 0, 1 y 2 en las dietas 1, 2, 3,

4 y 5 respectivamente) murieron durante la fase de inicio; no hubo mortalidad durante la fase de finalización. La sustitución redujo el costo de la producción de carne de pollo de engorde. Los autores recomiendan que la harina de mango hervida puede reemplazar al 50% de maíz en la dieta de pollos de engorde y hasta el 75% en las dietas de finalización.

Amao and Siyanbola<sup>(19)</sup> examinó el reemplazo del grano de mango tratado con calor seco a diferentes niveles (0, 10, 20 y 30%) en la dieta de 120 aves de pollos las aves fueron asignadas a cuatro tratamientos y replicado 3 veces con 10 aves cada uno, fueron alimentados ad libitum. La proteína total y la albúmina fueron significativamente altas ( $p < 0.05$ ) en aves alimentadas con 10% de grano de mango tratado térmicamente; la urea fue significativamente alta en aves alimentadas con 10 y 20% de semillas de mango tratadas térmicamente. La alanina transaminasa (ALT) también muestra una gran diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) en aves alimentadas con un 30% de semillas de mango tratadas térmicamente, pero todos los valores se encuentran dentro del rango normal para pollos de engorde. Este estudio revela que el grano de mango tratado con calor seco puede usarse en la dieta de pollos de engorda hasta en un 30% de reemplazo de maíz sin ningún efecto adverso. La alanina transaminasa (ALT) también muestra una gran diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) en aves alimentadas con un 30% de semillas de mango tratadas térmicamente, pero todos los valores se encuentran dentro del rango normal para pollos de engorde. La alanina transaminasa (ALT) también muestra una gran diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) en aves alimentadas con un 30% de semillas de mango tratadas térmicamente, pero todos los valores se encuentran dentro del rango normal para pollos de engorde; por lo tanto, estos autores recomiendan que el grano de mango tratado con calor seco puede usarse en la dieta de pollos de engorda hasta en un 30% de reemplazo de maíz sin ningún efecto adverso.

## **2.2. BASE TEORICA.**

### **2.1.1. Tracto gastrointestinal en aves**

El tracto gastrointestinal (TGI) del pollo está dividido en: boca, esófago, pro ventrículo, estómago, intestino delgado, ciegos e intestino grueso. El intestino delgado es el componente más largo tubo digestivo, mide más de 6 metros y se divide en tres segmentos anatómicos: duodeno, yeyuno e íleon.<sup>(20)</sup>

El TGI es un sistema complejo desde el punto de vista anatómico, estructural, histológico y fisiológico. Las principales funciones de este sistema son<sup>(21)</sup>:

- Recibir el alimento.
- Almacenarlo temporalmente.
- Tratamiento mecánico del alimento.
- Procesamiento químico del alimento.
- Absorción de los productos de la digestión.
- Retención temporal y finalmente expulsión de los productos de desecho y los no digeridos.
- Mantenimiento de una barrera protectora contra las infecciones microbianas y virales.

De las funciones principales del TGI, la digestión y absorción de nutrientes, resultan fundamentales para la producción animal. Dichas actividades son el resultado de una compleja especialización, se requiere de una gran superficie de contacto entre el alimento y el epitelio, esta es proporcionada por diversas estructuras como: la longitud del intestino grueso y delgado, pliegues intestinales, vellosidades y criptas y microvellosidades en algunas de las células epiteliales<sup>(21-23)</sup>.

Desde el punto de vista funcional el intestino delgado es el principal sitio de la digestión de los alimentos y de la absorción de sus productos, el quimo que proviene del estómago es recibido en el duodeno donde también llegan las enzimas del páncreas y la bilis del hígado para continuar con los procesos de solubilización y digestión. Contribuyen con el proceso el glucocaliz de las microvellosidades de los enterocitos,

células absortivas intestinales, en particular las sacaridasas y las dipeptidasas pues completan la degradación de la mayor parte de los azúcares y de las proteínas a monosacáridos y a aminoácidos respectivamente que luego son absorbidas. También son reabsorbidos el agua y los electrolitos que llegan al intestino delgado con el quimo y las secreciones pancreáticas y hepáticas en particular en la porción distal del intestino delgado<sup>(24)</sup>.

El recubrimiento epitelial del intestino esta sostenido por la lámina propia que contiene tejido conjuntivo subyacente a la superficie especializada, los canales vasculares y linfáticos, así como el sistema inmunológico o tejido linfoide relacionado con el intestino (TLRI). Los vasos sanguíneos entran y salen del extremo de las vellosidades forman un mecanismo de contracorriente que ocasiona una condición hiperosmolar para facilitar la absorción de líquidos<sup>(21)</sup>.

#### **2.2.1.1. Células del epitelio.**

Las células maduras del epitelio intestinal se encuentran en las criptas y en la superficie de las vellosidades, incluyen: células caliciformes (glándulas unicelulares secretoras de mucina), de Paneth y enteroendocrinas<sup>(24)</sup>.

##### ***A. Células caliciformes.***

Se encuentran entremezcladas con las demás células del epitelio intestinal, las células caliciformes aumentan en tamaño desde la parte proximal del intestino delgado hacia la parte distal, y son más numerosas en el íleon terminal<sup>(25)</sup>.

Producen moco, el mucinogeno es soluble en agua y se pierde durante la preparación de los cortes histológicos de rutina teñidos con Hematoxilina y Eosina, en condiciones normales la parte de la célula que contiene los gránulos de mucinogeno aparece vacía. El análisis en el microscopio electrónico de transmisión revela la presencia de una gran acumulación de gránulos de mucinogeno en el citoplasma apical, que distiende el ápice

de la célula y distorsiona la forma de las células vecinas. El nombre de la célula se debe a la forma característica que le confiere esta acumulación de gotitas. Una extensa disposición de sáculos de Golgi aplanados forma un ancho cáliz alrededor de los gránulos de mucinogeno recién formado, cerca de la parte basal de la célula<sup>(24)</sup>.

### ***B. Células de Paneth***

Las células de Paneth se encuentran en la base de las glándulas mucosas. Tienen citoplasma basal basófilo, un complejo de Golgi supranuclear y grandes gránulos de secreción apicales muy retractiles y con intensa acidofilia. Los gránulos permiten su fácil identificación en los cortes histológicos de rutina. Los gránulos de secreción contienen en la enzima antibacterial lisozima otra glucoproteínas, una proteína rica en arginina probable responsable de la intensa acidofilia y zinc. La lisozima digiere las paredes celulares de ciertos tipos de bacterias. Esta acción antibacteriana y la fagocitosis de determinada bacterias y protozoos y por las células de Paneth, sugieren que estas últimas podrían tener una activada reguladora de la flora bacteriana normal del intestino delgado<sup>(26)</sup>.

### ***C. Células enteroendocrinas***

Las células enteroendocrinas del intestino delgado son similares a las gástricas se concentran en la porción inferior de las criptas intestinales, pero migran lentamente y se pueden encontrar en todos los niveles de la unidad de las vellosidades. En las células enteroendocrinas intestinales<sup>(24)</sup>. Se encuentran casi todas las hormonas y secreciones similares a hormonas identificadas en este tipo celular en el estómago los reguladores más activos de la fisiología gastrointestinal, liberados en esta porción de intestino, son la colecistocinina (CCK) la secretina y el péptido inhibidor gástrico (GIP) Estas tres hormonas aumentan la actividad pancreática y vesicular e inhiben la función secretora y la motilidad gástrica. Otras posibles hormonas y sustancias similares,

secretadas por las células enteroendocrinas, tienen efectos similares e inhibitorios parecidos en otras partes del tubo digestivo<sup>(22,24)</sup>.

El intestino es un complejo órgano que forma parte del tracto gastrointestinal y es el paso obligado de los nutrientes que sirven de base para el metabolismo, el crecimiento y mantenimiento, y que aportan los recursos para el aparato inmunocompetente y el sistema esquelético y nervioso. El desarrollo y la salud del tracto gastrointestinal son la clave de la productividad de todos los animales de granja, incluyendo a las aves de corral. Son muchos los factores que pueden influenciar el desempeño del tracto gastrointestinal, como su salud, los estímulos inmunitarios, el medio ambiente, la nutrición, el tipo y la calidad de los ingredientes de la ración, las toxinas, el equilibrio de la microflora, las secreciones endógenas, la motilidad, los aditivos, etc. <sup>(21)</sup>.

### **2.1.2. Anatomía del tracto gastrointestinal en aves**

La mayor parte del epitelio de revestimiento y de las glándulas del tubo digestivo se origina en el endodermo del intestino primitivo. El tejido muscular, el conectivo y el peritoneo visceral de la pared del tubo derivan de la hoja esplácnica del mesodermo<sup>(27)</sup>.

Las aves cuentan con una anatomía única, que les proporciona un equilibrio entre las diferentes partes de su tracto. Al no contar con dentadura, la función mecánica de aprehender y romper el alimento es ejecutada por el pico, esta es una estructura cornificada en los huesos maxilares; que contiene en su interior la lengua caracterizada por su forma delgada y en punta, provista con el hueso entoglosal que se continuara cranealmente con el cartílago hialino, va presentar un epitelio escamoso estratificado <sup>(17)</sup>.

El esófago en las aves es un tubo que se distiende y cuenta con cuatro capas: mucosa, submucosa, túnica muscular y la capa serosa, conformado a su vez en su interior por epitelio escamoso estratificado queratinizado con abundantes glándulas mucosas, que proporcionan lubricación a la comida que se ingiere, dado que las aves deben tragar el alimento entero. Dada la

ubicación del buche, encuentra dividido en dos segmentos: el cervical antes del buche y el torácico que se conectara más adelante con el proventrículo. El buche se encuentra en la parte ventral del esófago y su función es el ablandamiento y almacenamiento del alimento <sup>(28)</sup>.

Uno de los procesos más importantes durante el recorrido de la ingesta se lleva a cabo en el estómago, ya que es el lugar donde se realiza la digestión de los alimentos, bien de manera mecánica como lo es por la porción no glandular o enzimática por la glandular. Al final del esófago se encuentra el estómago glandular o también llamado proventrículo, lugar donde se añaden la pepsina, y el ácido clorhídrico en el paso del alimento por el mismo <sup>(29)</sup> el cual también puede tener función de almacenamiento en las aves que carecen de buche y en algunas especies que se alimentan de peces (como son las garzas) que degluten el pescado entero. El proventrículo es un órgano fusiforme de pared gruesa que cuenta con elevaciones cónicas llamadas papilas. La mucosa se conforma de una lámina epitelial constituida por epitelio simple cilíndrico productor de mucina y una lámina propia de tejido conectivo laxo, abundante en tejido linfoide que presenta la prolongación de los surcos de la lámina epitelial y son denominadas glándulas proventriculares. Las glándulas proventriculares profundas son las encargadas de la producción de jugo gástrico y pepsinógeno, las células más apicales sintetizan el ácido clorhídrico y las más basales el pepsinógeno <sup>(28)</sup>. El alimento sigue su recorrido a través del istmo, estructura tubular que carece de glándulas y que comunica el estómago glandular con la molleja, ventrículo o estomago muscular. La molleja se especializa en moler el alimento y se encuentra recubierta por una membrana proteica que es el producto de las secreciones las glándulas mucosas y de las células principales y las de revestimiento; la cual la protege de enzimas proteolíticas y el ácido secretados por el proventrículo y de lesiones durante la molienda de alimentos duros. También hay escasa presencia de células de producción endocrina, algunas secretan gastrina y unas pocas somatostatina. Suele tomar un color verdoso que se debe al reflujo de pigmentos biliares desde el duodeno <sup>(30)</sup>.

El intestino es considerado como la porción de tracto comprendido entre el píloro y el ano y se divide en dos porciones (delgado y grueso) que tienen funciones diferentes. El intestino delgado de las aves de corral es

relativamente simple, pero muy eficiente a la vez y se divide en tres segmentos: duodeno, yeyuno e íleon, que presentan diferentes dimensiones y cambios dirigidos a facilitar la absorción de los nutrientes (Tabla 1). El intestino cuenta con un gran número de linfocitos T y B que se pueden encontrar en su mayoría en el divertículo de Meckel lo cual cumple una labor importante en la inmunidad de las aves <sup>(29)</sup>.

Tabla 1. Dimensiones del sistema digestivo aves de producción.

Segmento	Longitud (cm)
Tracto Completo	165 – 230
Duodeno	25 – 35
Yeyuno	85 – 120
Íleon	13 – 18
Ciego	12 – 25
Colon y recto	08 – 11

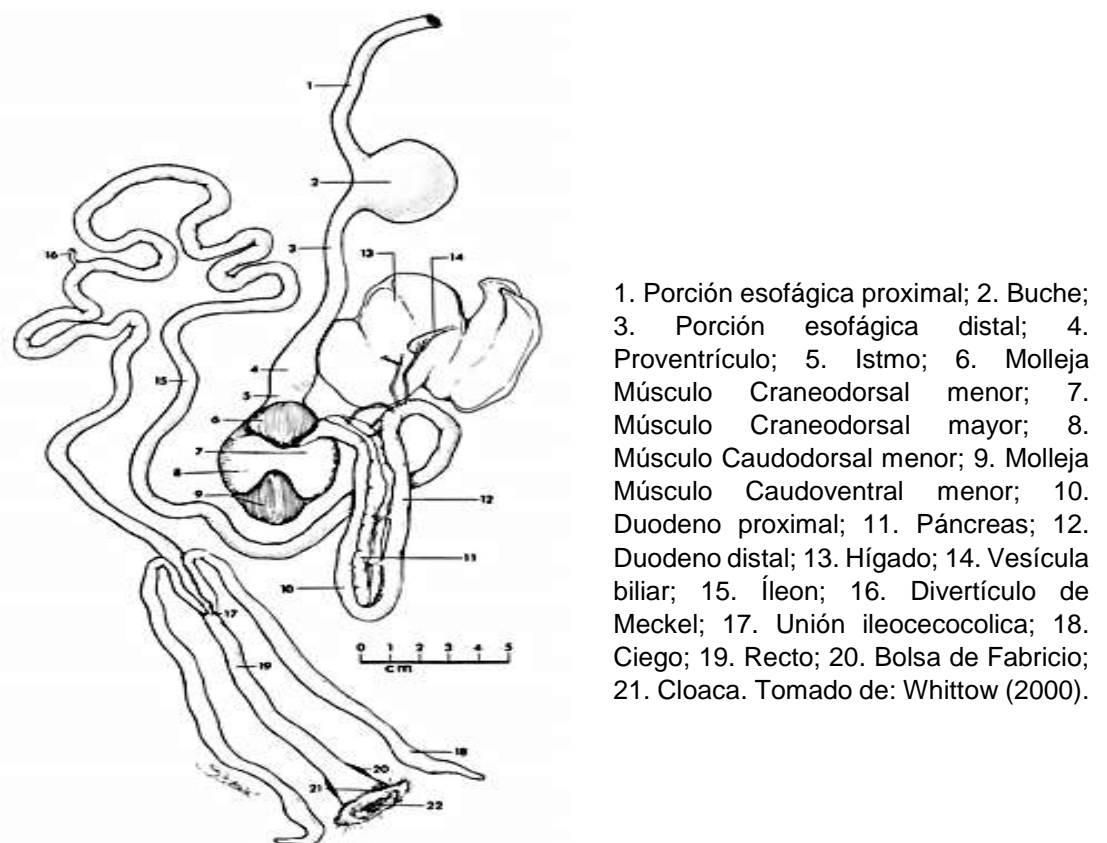
Modificado de Fehér, 1980 citado por Gutiérrez (17).

En su epitelio se encuentran un grupo de células que ayudan a cumplir las diferentes funciones como la absorción de nutrientes (enterocitos), secreción de moco (células caliciformes) o regulación de la actividad hormonal (células enteroendocrinas). Los enterocitos son las células principales del intestino delgado y presentan forma cilíndrica.

Por otro lado, las células caliciformes se localizan tanto en el epitelio de las vellosidades como de las criptas, encontrándose en mayor cantidad en la porción caudal del intestino, aportando mucus por exocitosis, lubricando y protegiendo la mucosa intestinal. Las células enteroendocrinas, secretan hormonas y péptidos reguladores los cuales influyen factores como la contracción de la vesícula biliar, secreción gástrica y pancreática y la motilidad intestinal. El número de vellosidades disminuye en las aves del día 1 a 10 de edad, momento desde el cual se mantiene constante. Este conteo es vital para seguir el desarrollo de la mucosa intestinal y evaluar la función intestinal del ave <sup>(31)</sup>.

Entre las vellosidades se divisan unas estructuras denominadas criptas de Lieberkühn, donde se encuentran a su vez células de Paneth, caracterizadas por su forma piramidal y que tienen como función síntesis proteica. Se considera que al aumentar el número de vellosidades en el intestino, se está aumentando el número de criptas de LieberKühn, las cuales son las estructuras glandulares y tubulares presentes en la mucosa de las vellosidades<sup>(32)</sup> y presentan en su base las llamadas células de Paneth; estas tienen como finalidad la secreción del jugo entérico, responsable de la digestión final de los alimentos, transformando los polipéptidos en aminoácidos libres, los disacáridos en monosacáridos y las grasas en glicerina y ácidos grasos.

Figura 1. Esquema de la estructura del tracto digestivo de las aves.



Realizar una diferenciación entre duodeno, yeyuno e íleon puede ser complicada, dado el gran parecido a nivel histológico que tienen, por eso las diferentes porciones se dividen dependiendo de su posición anatómica.

Continuando con el recorrido de la ingesta se encuentra la unión ileocecal. Los sacos ciegos son los encargados principalmente de la absorción de agua y la digestión microbiana de celulosa, por este motivo su tamaño es influenciado por la dieta (es mayor en dietas altas en fibra) <sup>(33)</sup>.

Por último, el intestino grueso corto en aves de corral tiene como función la absorción de agua y las sales del producto de la digestión. Este a su vez se divide en colon y recto que contiene cortas vellosidades y un mayor número de células caliciformes, se podría decir que son las únicas diferencias sustanciales con la composición del intestino delgado. El recorrido de la ingesta termina en la cloaca, el sitio que es común a los sistemas digestivos, urinarios y reproductivos y se encuentra revestida por epitelio cilíndrico simple, teniendo como función la expulsión de desechos del organismo.

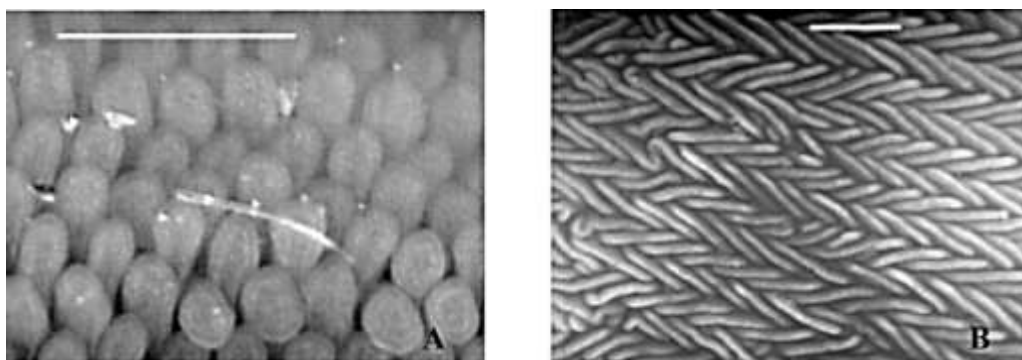
Hall <sup>(32)</sup> enfatiza en que la mucosa del intestino grueso, en especial en los ciegos, presenta numerosas criptas de Lieberkühn, las cuales carecen en su mayoría de células de Paneth y poseen un número muy elevado de células caliciformes. Estas estructuras tienen a su cargo la función de secretar grandes cantidades de mucus, el cual es vertido sobre la mucosa del intestino y, evidentemente, evita las excoriaciones contra posibles partículas groseras que se encuentran en los alimentos. Otra función de esta sustancia es proteger la mucosa contra la actividad bacteriana intensa que tiene lugar en esta área así, como de los ácidos formados.

El desarrollo del TGI en la post-eclosión muestra un crecimiento acelerado en el que los segmentos intestinales incrementan significativamente hasta los 8 a 10 días de vida. Este rápido crecimiento relativo del intestino delgado alcanza sus niveles más altos entre los 6 y 8 días de vida en el caso de pavos y entre los 6 a 10 días en el caso de pollos de carne. La tasa de incremento es mayor en la sección duodenal, decreciendo progresivamente a medida que se acerca al colon. De hecho, el duodeno muestra una mayor tasa de crecimiento temprano que el yeyuno e íleon, posteriormente ésta decrece dando lugar al aumento de la tasa de crecimiento de estos dos últimos segmentos intestinales<sup>(33)</sup>.

### **2.1.3. Desarrollo de las vellosidades intestinales en el pollo**

Tal vez el desarrollo de la mucosa intestinal en la post-eclosión sea lo que llame más la atención ya que, en el transcurso de algunas horas, la estructura morfológica de la mucosa iniciará un rápido desarrollo, sobre todo en presencia de alimento. No obstante, la evolución de la mucosa intestinal ya se había iniciado en la última fase embrional, aunque no era muy marcada<sup>(33)</sup>. Durante las primeras horas, las vellosidades intestinales son relativamente pequeñas y en los espacios entre vellosidades apenas son perceptibles algunas criptas intestinales de Lieberkung. Sin embargo, un continuo proceso de renovación y proliferación celular en la mucosa de las criptas, predominantemente de enterocitos que migraran hacia las vellosidades, y la proliferación de células goblet, incrementaran la actividad de digestión, absorción y la secreción de mucina. Hay dos tipos de vellosidades en el duodeno y el íleon de pollos de 1 día de edad (Figura 1), vellosidades en forma de dedo (finger-like) y en forma de flecha (narrow plate-like) que presentan una disposición en zig-zag. Las primeras son predominantes a una edad temprana, en tanto que las segundas serán predominantes en aves con un mayor desarrollo epitelial. La disposición en zig-zag está relacionada con la función digestiva, ya que retrasa el paso de la digesta sobre la mucosa digestiva mejorando su contacto con el epitelio (mejores tasas de digestión y absorción), y es además característica de animales en buen estado de salud. Cuando la digesta atraviesa por los diferentes segmentos provoca una respuesta fisiológica y mecánica, que puede traducirse en cambios en la morfología de la mucosa intestinal. Es posible que el desarrollo y posterior disposición anatómica normales de las vellosidades intestinales se vea afectada por elementos externos (sustancias tóxicas, microorganismos patógenos, cuerpo extraños en el pienso) presentes en la luz intestinal; esto influirá negativamente en la capacidad digestiva y de absorción gastrointestinal, principalmente en animales jóvenes en crecimiento<sup>(34)</sup>.

Figura 2. Tipo de vellosidades en pollos de engorde.



Fuente: Van Leeuwen et al.,(34)

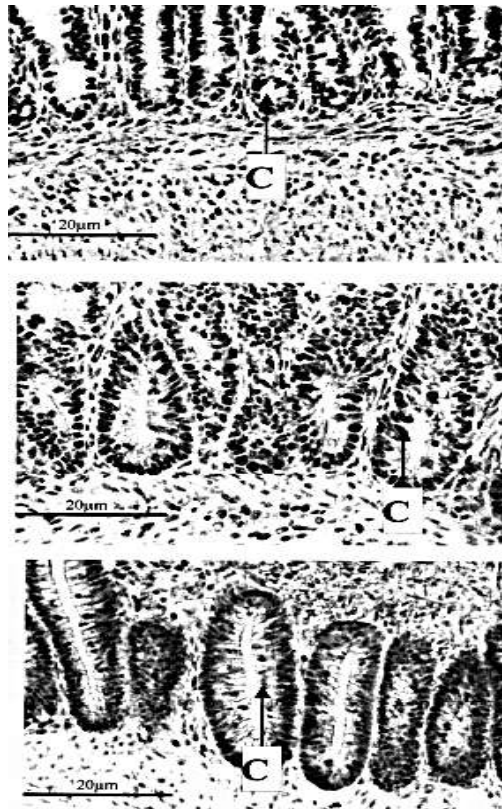
A: Pollo de 1 día de edad, vellosidades en forma de dedo. B: Pollo de 21 días de edad, vellosidades con un patrón regular de zig-zag

Aludiendo a Uni et al <sup>(35)</sup>, indica que durante el desarrollo del embrión, la formación de la mucosa intestinal da lugar al desarrollo de las llamadas pre-vellosidades que serán notorias entre los 14 y 17 días de incubación y que iniciaran su actividad de absorción de nutrientes aproximadamente 2 días antes de la eclosión. Durante las primeras horas, las vellosidades intestinales son relativamente pequeñas y en los espacios entre vellosidades apenas son perceptibles algunas criptas intestinales de Lieberkung. Sin embargo, un continuo proceso de renovación y proliferación celular en la mucosa de las criptas, predominantemente de enterocitos que migraran hacia las vellosidades, y la proliferación de células caliciformes incrementara la actividad de digestión, absorción y la secreción de mucina.

La longitud de las vellosidades es variable según el segmento intestinal medido, observándose generalmente una mayor longitud de las vellosidades del duodeno los primeros días de vida y un mayor desarrollo posterior de las vellosidades del yeyuno e íleon. Sin embargo y de manera general, se observa un rápido desarrollo (en altura y diámetro) de las vellosidades intestinales en todos los segmentos del 34 al 100 % entre 4 y 10 días post-eclosión. En la post-eclosión las criptas están poco desarrolladas y contienen pocas células, sin embargo incrementan rápidamente en tamaño y complejidad, sobre todo en el yeyuno (Figura 2). Al eclosionar las criptas del intestino delgado eran rudimentarias (Figura 2, A) y después de las secciones seriales, parecieran que generalmente se observa una sola cripta por ser velloso en el epitelio del

interúlo yeyunal. Estas criptas son pequeñas y contienen pocas células. Sin embargo, las criptas posteriores al nacimiento aumentan rápidamente en tamaño y complejidad en el yeyuno (Figura 3, B, C) <sup>(35)</sup>.

Figura 3. Criptas en diferentes etapas de desarrollo.



Microscopía óptica de secciones yeyunales: (A) 2 horas después de la eclosión, (B) 108 horas después de la eclosión y (C) 330 horas después de la eclosión. C marca criptas.

Fuente: Uni *et al.*, (2000)(35)

El índice de proliferación celular post-eclosión esta entre 50 - 60 % y descende conforme avanza la edad, hasta menos del 10 % a los 14 días de vida. Durante el desarrollo de la mucosa epitelial, en condiciones fisiológicas normales, la migración de enterocitos desde las criptas intestinales hacia la porción apical de las vellosidades promoverá su crecimiento (o renovación por descamación epitelial) sin embargo, no es paralelo. Esto puede observarse al calcular la relación vellosidad: cripta que será aproximadamente de 2 a las 12 horas post-eclosión y que incrementará a 3 o 4 después de las 240 horas post-eclosión. El número de células caliciformes (productoras de mucus) por vellosidad aumenta conforme lo hace la vellosidad, pero su proporción se mantiene constante con la edad. A su vez, la densidad por mm<sup>2</sup> incrementa

levemente en el duodeno y en una mayor proporción en el yeyuno e íleon. En la pre-eclosión el producto de su secreción es predominantemente una mucina ácida, en tanto que en la post-eclosión, su secreción estará compuesta de mucina ácida y neutra <sup>(35)</sup>.

El efecto promotor de crecimiento de las paredes celulares en el pollo de engorda coincide con los pocos estudios de otros autores<sup>(36,37)</sup> y puede explicarse por otro hallazgo importante, la mayor longitud y número de las vellosidades intestinales, lo cual pudo haber propiciado mayor aprovechamiento de nutrimentos, al aumentar la absorción de ácidos grasos, aminoácidos y glucosa<sup>(38)</sup>.

Se ha informado que una mejor salud intestinal conduce a un incremento de las vellosidades intestinales; y se ha demostrado que los mananos y glucanos presentes en las paredes celulares, disminuyen las bacterias enteropatógenas que impiden aumentar el dominio de la flora bacteriana benéfica<sup>(39)</sup>.

González et al, (2007), manifiestan que la inclusión de componentes fibrosos en la dieta provoca modificaciones en la morfología intestinal en animales monogástricos<sup>(40)</sup>.

#### **2.1.4. Histología del Intestino delgado y grueso**

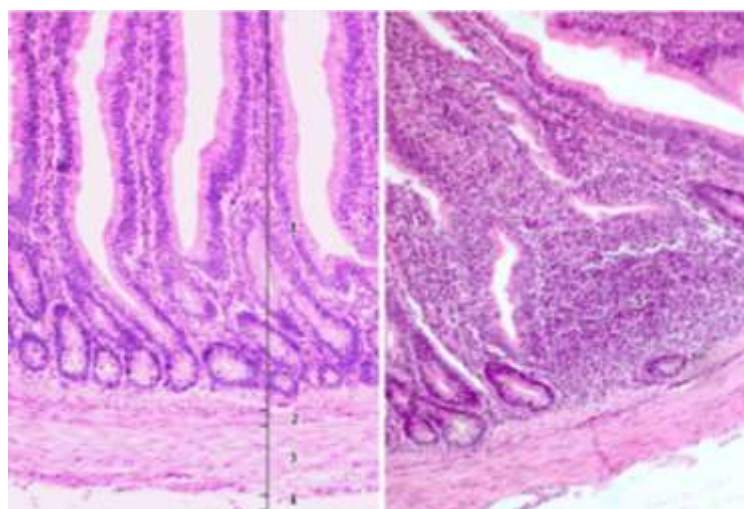
El tubo intestinal de las aves es más corto que el de los mamíferos y su longitud varía según los hábitos alimenticios, como por ejemplo las aves granívoras y herbívoras es mucho más largo que en las carnívoras, posiblemente debido a la mayor complejidad de la digestión de granos y plantas. En el intestino de las aves está altamente vascularizado y posee una gran extensión de su superficie destinada a la digestión, absorción y secreción. De hecho, las vellosidades intestinales que en los mamíferos se encuentran solo en el intestino delgado, en las aves se hallan también en el intestino grueso. Las secreciones intestinales contienen mucina, con funciones protectoras y lubricantes, agua, enzimas, inmunoglobulinas, entre otros componentes, necesarios no solo para el proceso digestivo, sino también para la protección frente a agentes físicos-químicos y biológicos; por lo que el sistema digestivo está formado por órganos de los cuales el tubo digestivo es la estructura más grande de este sistema y comprende desde el píloro hasta

el ano, dividiendo en dos segmentos importantes: intestino delgado y grueso<sup>(41)</sup>.

#### 2.1.4.1. Histología del intestino delgado

El intestino delgado formado por el duodeno, yeyuno e íleon, es el principal lugar de absorción de los productos finales de la digestión, minerales, vitaminas y sales biliares; la porción inicial del intestino delgado es el duodeno que comprende la primera asa intestinal y culmina en la desembocadura de los conductos biliares y pancreáticos. Los restantes segmentos del intestino delgado, el yeyuno e íleon, morfológicamente no están demarcados de forma evidente. El divertículo de Meckel, vestigio de la conexión embrionaria entre el intestino y el saco vitelino, persiste en el 80-90% de las aves; en este sitio se desarrolla tejido linfático similar a las placas de Peyer (véase más adelante en intestino delgado y también en capítulo sobre sistema inmunitario). El intestino delgado finaliza en la unión íleo-cecal, zona en la que surgen dos ciegos que corren a cada lado del colon<sup>(41)</sup>; su estructura histológica es la siguiente: mucosa, submucosa, muscular y serosa.

Figura 4. Intestino delgado (íleon) de las aves. Coloración H-E. 100x.



Fuente: Zanuzzi y Barbeito<sup>(41)</sup>

Se observan las cuatro tunicas típicas del órgano: mucosa (1), submucosa (2), muscular (3) y serosa (4). En la túnica mucosa se reconoce el tejido linfoide difuso y nodular asociado al intestino (5).

## **A. Mucosa**

Desde el punto de vista histológico, en toda la mucosa del intestino delgado, observamos largas vellosidades intestinales. La muscular de la mucosa en el duodeno y yeyuno de la gallina, consiste en sólo una capa de fibras musculares lisas de disposición longitudinal a lo largo de todo el segmento <sup>(42)</sup>.

La mucosa presenta especializaciones destinadas al incremento de la superficie, facilitando el proceso de digestión y absorción. Las estructuras implicadas en esta función son los pliegues, las vellosidades, las criptas y las microvellosidades. Los pliegues están constituidos por la mucosa y la submucosa. Las vellosidades son proyecciones digitiformes de la mucosa, cuya longitud varía con la especie y la actividad fisiológica. Las criptas intestinales están formadas por invaginaciones tubulares de la mucosa, que se abren en la base de las vellosidades. Las microvellosidades se localizan en el borde apical de los enterocitos. La mucosa está revestida por un epitelio simple cilíndrico, que forma una capa celular continua sobre las vellosidades y las criptas<sup>(43)</sup>.

Las vellosidades que son evaginaciones con forma de hoja dispuestas en un patrón en zig-zag. Entre las vellosidades se abren las criptas o glándulas intestinales cortas y ligeramente sinuosas. La forma, el tamaño y el número de las vellosidades varían en toda la extensión del intestino y con la dieta. Las vellosidades intestinales son más cortas en las aves frugívoras y carnívoras en comparación con las aves granívoras, y en el avestruz se describen vellosidades de gran longitud, muy ramificadas y de disposición laberíntica. <sup>(41)</sup>

La mucosa está conformado por: Epitelio, Lámina propia y Muscularis mucosae o muscular de la mucosa<sup>(44)</sup>.

### A.1. Epitelio

Se proyecta hacia la superficie intestinal para luego hundirse de nuevo conformando proyecciones a manera de dedos llamadas vellosidades, en este caso la médula de las vellosidades es la lámina propia. Las vellosidades son responsables del área de superficie de la mucosa intestinal. La superficie de las vellosidades está tapizada por una sola hilera de células epiteliales de diversos tipos. Entre vellosidades y vellosidad se encuentran glándulas tubulares simples de 320 a 450 micrones de longitud, las que penetran en la lámina propia hasta casi ponerse en contacto con la musculares mucosae, llamadas criptas o glándulas de Lieberkuhn. (Figura 5).

Figura 5. Corte histológico de una vellosidad de íleon.



Fuente: Illanes et al.(45)

E. Epitelio; Células caliciformes (flechas) y chapa estriada (doble flecha). H-E 400X

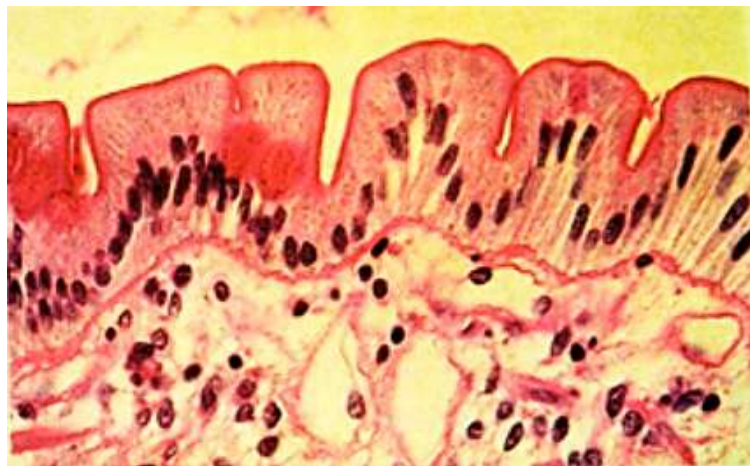
El epitelio de la mucosa puede entonces dividirse en epitelio de las vellosidades y epitelio de las criptas.

#### ***Epitelio de las vellosidades***

La célula principal es la llamada célula de absorción, ésta es una célula alta columnar, con un núcleo situado basalmente, redondo u oval y un citoplasma eosinofílico. En la superficie apical posee un

borde en cepillo intensamente eosinofílico, que, las hace fácilmente identificable. Este sobresale nítidamente con el método histoquímico de Pass (Figura 6). El borde en cepillo se halla compuesto de microvellosidades y glicocalix, actuando como una barrera contra los microorganismos y sustancias extrañas, además, estas contienen importantes enzimas como peptidasas y disacaridasas que intervienen en los procesos digestivos finales.

Figura 6. Epitelio de las vellosidades a través del método histoquímico de Pass



Fuente: Ferrufino, Taxa y Gladis (44)

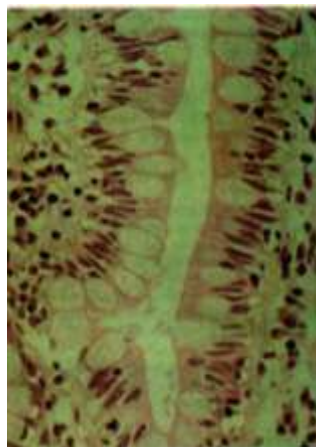
El glicocalix es sintetizado por las células de absorción y es transportado a la superficie en reemplazo del persistente de manera dinámica.

Interpuestas entre las células de absorción se encuentran células, con escaso borde de cepillo a nivel con una característica gota de mucina ácida y neutral a nivel apical, que les da forma de una copa o cáliz, y de allí el nombre células caliciformes; La secreción de la mucina mantiene un ambiente viscoso y húmedo a la superficie epitelial.

Las mucinas ácidas del Intestino Delgado son sialomucinas a diferencia de las mucinas de las células caliciformes colónicas que son predominantemente sulfomucinas.

Las células enteroendocrinas se distribuyen por todo el epitelio de las vellosidades vellosas y glándulas intestinales, estas son productores de hormonas peptídicas (gastrina, secretina y colecistoquinina) y monoaminas biogénicas, que intervienen en la regulación de la digestión, absorción y utilización de nutrientes. Además están los linfocitos que se hallan entre las células inmediatamente por encima de la membrana basal. Aproximadamente un linfocito por cada 5 células epiteliales. La mayoría de los linfocitos son T supresoras citotóxicas (CD8) (Figura 7).

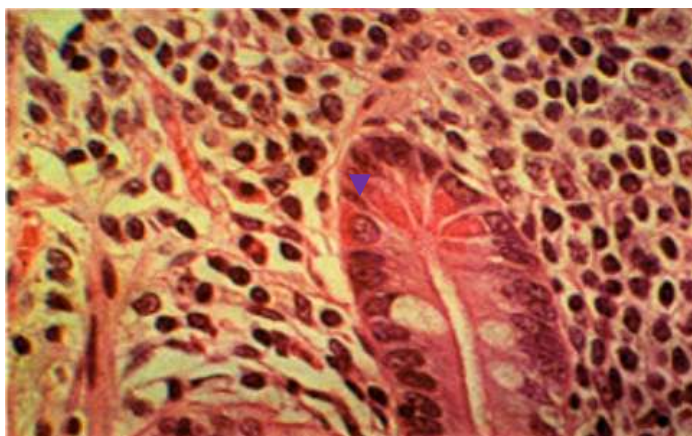
Figura 7. Linfocitos en el epitelio de vellosidades



Fuente: Ferrufino, Taxa y Gladis (44)

Las células de Paneth son células que se encuentran en el corion, tienen una forma piramidal con el ápice apuntado al lumen. Poseen en el citoplasma supranuclear, gránulos intensamente eosinofílicos con la coloración de Hematoxilina-Eosina. Los núcleos son basales, redondos con nucleolo, prominente. Su función no está clara aún, pero como contienen lisozimas e inmunoglobulinas, y además, poseen capacidad fagocítica se cree que su función es la regulación de la flora microbiana intestinal. En la Figura 8 se ven 4 células de Paneth.

Figura 8. Células de Paneth (▼) en el epitelio de las criptas



Fuente: Ferrufino, Taxa y Gladis (44)

## A.2. Lámina propia

El epitelio de las vellosidades y de las criptas se encuentra separado de la lámina propia de la membrana basal, la cual es fácilmente visible al microscopio de luz con una coloración de PAS (Figura 5). A la microscopía electrónica de transmisión, la membrana basal es continua y está compuesta por una lámina basal del colágeno y matriz amorfa con una lámina reticular de fibras colágenas reticulares.

Presenta fibras como fibroblastos, células plasmáticas, células musculares lisas, fibras colágenas y elásticas con matriz fundamental amorfa conforman lámina propia, además cinco células inmunocompetentes o inflamatorias: células plasmáticas, linfocitos, eosinófilos, histiocitos y células cebadas. No debe haber polimorfonucleares ni en el epitelio ni en la lámina propia.

Las células más abundantes son plasmáticas, las cuales contienen en su mayoría Ig A. De los linfocitos T los más frecuentes son los ayudadores/inductores (CD4). Agrupaciones de linfocitos usualmente por encima de la musculares mucosae, y agrupaciones más densas con formación de folículo linfoides, con o sin centros germinativos se vuelven más frecuentes a medida que nos alejamos del estómago, algunos acúmulos linfoides pueden llegar a la membrana submucosa (Figura 9). Los histiocitos conocidos también como macrófagos se localizan cercanos a las puntas de las

vellosidades. Como se sabe, estos actúan regulando la función de los linfocitos T, preparando el antígeno.

Figura 9. Folículos linfoides en la membrana de la submucosa



Fuente: Ferrufino, Taxa y Gladis (44)

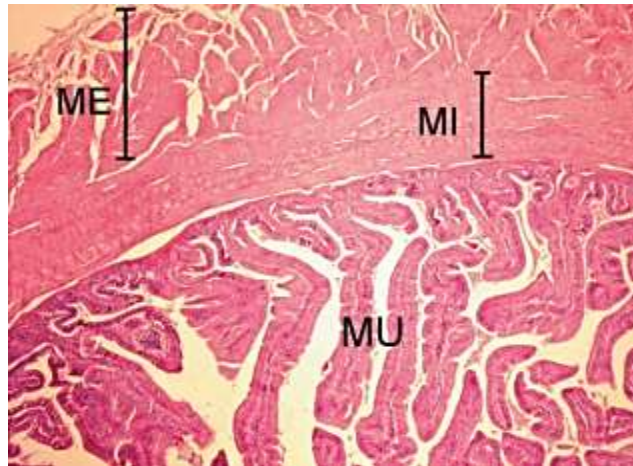
Los eosinófilos son células fáciles distinguibles, y su número varía en numerosas entidades, desafortunadamente su función todavía es desconocida. Las células cebadas son relativamente numerosas en comparación con otros órganos y su número disminuye a medida que nos acercamos al colon.

### A.3. Muscularis mucosae

Es una banda continua de tejido muscular liso y de fibras elásticas. El tejido muscular está compuesto de una banda circular interna y una banda longitudinal externa. Pequeñas bandas de ésta se extienden por la lámina propia hacia las vellosidades. (Figura 10).

Su armazón está compuesto por fibras colágenas y elásticas, las células que se hallan a este nivel son histiocitos, linfocitos, células plasmáticas y células cebadas; además de tejido adiposo.

Figura 10. Capa Muscularis mucosae del íleon



Fuente: Illanes et al.(45)

MU. Mucosa; MI. Muscular interna; ME. Muscular externa. H-E 100X.

## B. Submucosa

La submucosa, se observa como una delgada capa de tejido conjuntivo laxo con fibras colágenas y elásticas, muestra un mayor espesor cuando contiene plexos nerviosos submucosos o de Meissner, vasos sanguíneos y no muestra glándulas<sup>(46)</sup>. En ocasiones es tan delgada que solo es detectable el plexo nervioso submucoso. Por el escaso desarrollo de esta capa en ocasiones es difícil distinguir la muscular de la mucosa de la túnica muscular<sup>(41)</sup>. La innervación dada por los plexos submucosos está dada por un componente extrínseco y otro intrínseco, este último lo da el plexo de Meissner que contienen algunas neuronas sensoriales que reciben información de terminaciones nerviosas cerca al epitelio de las vellosidades y en la muscular externa sobre la composición del contenido intestinal (quimiorreceptores) y el grado de expansión de la pared intestinal (mecanorreceptores). Las otras células nerviosas son efectoras e intervienen las capas musculares y las células que secretan hormonas. La innervación extrínseca está dada por fibras simpáticas y parasimpáticas<sup>(44)</sup>.

En un corte longitudinal de la pared intestinal la mucosa y la submucosa se sitúan por encima de la muscular formando pliegues, llamados Plicae circularis o pliegues circulares o válvulas de

Kerckring, como lo había los pliegues de alfombra, encontrando que la médula de estas estructuras es la submucosa. Estos pliegues circulares son los responsables de la disminución de la velocidad del tránsito intestinal y del aumento del área de superficie de la mucosa intestinal<sup>(44)</sup>.

### **C. Muscular**

La muscular consta de dos capas de musculatura lisa, una de disposición circular interna y otra longitudinal externa de mayor espesor entre las que se localizan el plexo nervioso mientérico, numerosos vasos sanguíneos y fibras elásticas, en todas las especies descritas (Stinson & Calhoun)<sup>(41)</sup>.

### **D. Serosa**

La túnica serosa consta de un mesotelio y de tejido conectivo que aumenta su espesor en la zona donde se origina el mesenterio <sup>(41)</sup>.

En cuanto a las diferencias histológicas regionales del intestino delgado, el duodeno tiene las vellosidades más largas y las criptas más profundas, lo que determina que su mucosa sea más gruesa. El número de células enteroendocrinas disminuye desde el duodeno hacia el recto, en cambio las células caliciformes se hacen más numerosas hacia el recto. La muscular de la mucosa aumenta de espesor y forma un esfínter cranealmente a la unión íleocecal<sup>(41)</sup>.

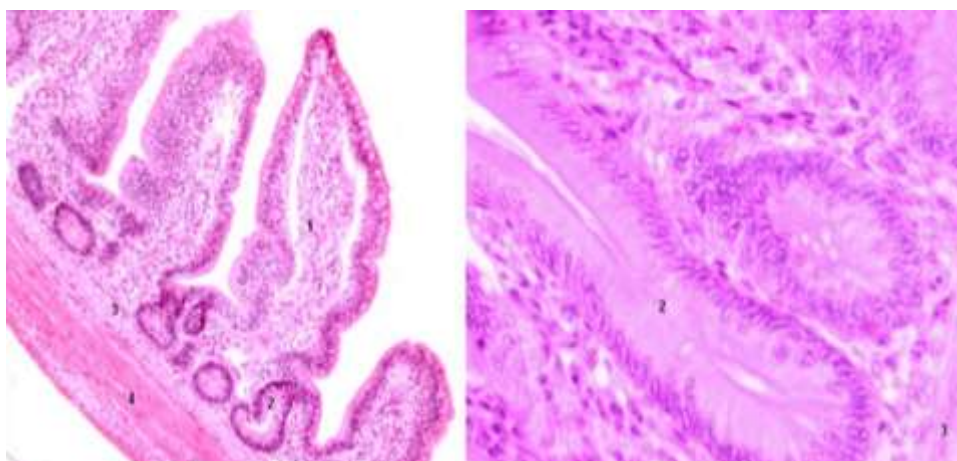
#### **2.1.4.2. Histología del intestino grueso**

El intestino grueso es muy corto y se diferencia del intestino delgado por poseer una pared de mayor espesor. Conformado por dos ciegos y un segmento colo-rectal final. Los ciegos se encuentran unidos al intestino delgado por pliegues peritoneales. A diferencia de lo que sucede en los mamíferos, en la mayoría de las aves los ciegos son pares. Los ciegos son muy pequeños en los psitácidos; mientras que en las garzas se desarrolla un solo ciego y el restante permanece

como un rudimento en la pared del intestino. En algunas aves, como los halcones, no se han descripto<sup>(41)</sup>.

La entrada al ciego, en general, presenta una red interdigitada de vellosidades que separa el contenido que pasa al colon: actúa como un filtro que excluye grandes partículas y solo deja pasar líquidos y pequeñas partículas; además se ha observado que algunas regiones de la porción proximal de los ciegos presentan microvellosidades que se hacen largas y las criptas cortas, y no existe la muscular de la mucosa, en cambio en la región media de los ciegos la mucosa forma grandes pliegues, las microvellosidades se acortan y la muscular de la mucosa posee mayor espesor y consta de dos capas (Figura 9) <sup>(41)</sup>.

Figura 11. Intestino grueso (ciego) de las aves.



Fuente: Zannuzi y Barbeito (41). Coloración H-E. 100x y 40x (paneles izquierdo y derecho, respectivamente). En la túnica mucosa se observan las microvellosidades (1) y las criptas intestinales (2). Una delgada muscular de la mucosa limita exteriormente a la túnica mucosa (3). Por fuera se distingue la túnica muscular (4)

Al igual que el resto del tracto digestivo, el intestino grueso la pared del intestino grueso se puede dividir en 4 capas: mucosa, submucosa, muscular y serosa <sup>(43)</sup>.

#### A. La mucosa

Formada por un epitelio simple cilíndrico que forma numerosas glándulas mucosas tubulares denominadas criptas de Lieberkühn.

Éstas aparecen como invaginaciones de las superficies epiteliales. Una de las principales funciones del intestino grueso es la reabsorción de agua y electrolitos del proceso digestivo.

También secreta una gran cantidad de moco que favorece el tránsito de los deshechos semisólidos no digeridos. Las células mucosas son más abundantes en el epitelio del intestino grueso que en el del intestino delgado. La proporción entre células mucosas y células absorbentes, denominadas enterocitos, cambia de 4 a 1 en las porciones más próximas al intestino delgado a 1:1 en las zonas más próximas al ano. Las células epiteliales se renuevan constantemente: nacen en la base de las criptas y van desplazándose hacia la superficie del tubo digestivo donde mueren. Todo este proceso suele durar unos 5 días.

La lámina propia es similar a la del resto del tubo digestivo con sólo unas pocas peculiaridades como la carencia de vasos linfáticos o de una capa gruesa de colágeno entre la membrana basal del epitelio y los vasos sanguíneos próximos. La muscular de la mucosa normalmente se organiza en dos capas de músculo liso con distinta orientación. En algunas zonas es delgada.

#### B. Submucosa

Formada por tejido conectivo muy denso. Contiene vasos sanguíneos de gran calibre y algunas zonas con tejido adiposo.

#### C. Muscular

Su organización es de forma distinta. Existe una capa longitudinal de músculo liso que es más delgada que la capa circular, sin embargo, la capa longitudinal se engruesa en tres lugares concretos para formar bandas que se pueden observar a simple vista. La serosa es una capa muy delgada de conectivo que en algunos puntos se continúa con el peritoneo.

Según su grado de desarrollo y sus características funcionales, los ciegos del intestino aviar pueden dividirse en cuatro categorías<sup>(41)</sup>:

a) Tipo primitivo o intestinal: los ciegos de este tipo son semejantes al resto del intestino y su función es esencialmente digestiva, se encuentran en pelícanos, patos, gansos.

b) Tipo glandular o engrosado: este tipo de ciegos se caracteriza por su gran tamaño y aunque mantiene una función digestiva, absorptiva y secretoria profusa se adapta a un incremento de la celulosa en la dieta y contiene una microbiota que permite la utilización de este carbohidrato. Se encuentra en algunas galliformes y en las falsas perdices americanas del género *Tinamus*. En este órgano se alojan bacterias que producen vitaminas y, en algunas especies de aves, permite la utilización de la cera de abejas como nutriente.

c) Tipo linfopitelial: en este tipo de ciegos la función digestiva está reducida y el componente inmune está proporcionalmente muy desarrollado. Se encuentra en cigüeñas, algunos falconiformes, numerosas passeriformes y palomas.

d) Tipo vestigial: los ciegos de este tipo presentan un escaso desarrollo y están incorporados en la pared intestinal. Se observan en pingüinos, gorriones, petreles y algunas especies de palomas.

En el intestino grueso de la aves también se produce el reflujo del contenido luminal mediante movimientos antiperistálticos de los fluidos que llegan a la cloaca, incluso de la orina. Luego de alcanzar el colon los materiales transportados por este mecanismo ingresan al ciego, en donde se reabsorbe principalmente agua. La importancia de esta reabsorción varía con la especie de ave, con el tipo de ciegos, como así también con el medio ambiente. Con respecto a este último factor se destaca que en algunas aves, como el emú expuesto a condiciones de estrés hídrico, el colon y el recto presentan vellosidades continuas y altas para incrementar la absorción de agua<sup>(41)</sup>.

### 2.1.5. Mango (*Mangífera indica* L.)

El mango es un importante cultivo frutícola que se cultiva en los trópicos principalmente por su pulpa. La semilla de mango, que representa entre el 20 y el 60% de la fruta, tiene un uso limitado de alimentos o industrial en la mayoría de los países productores y, por lo tanto, se desperdicia. El grano contenido en la semilla (grano de semilla de mango: MSK) es una buena fuente de carbohidratos (58-80%), contiene cantidades moderadas de proteínas (6-13%) y grasa (6-16%). y su aceite es una buena fuente de ácidos esteárico y linoleico<sup>(47)</sup>.

#### 2.1.5.1. Composición de harina de semilla de mango

Hay un vasto cuerpo de información sobre la composición nutricional de harina de semillas de mango (HSM), sin embargo, es difícil culto para dar valores representativa de los componentes, ya que varían ampliamente; sin embargo, es difícil dar valores representativos para los constituyentes, ya que varían ampliamente (Tabla 2)

Tabla 2 Composición proximal de harina de semilla de mango (HSM), maíz y granos de sorgo (g / 100 g de MS).

Constituyentes	HSM	Grano de Maiz	Grano Sorgo
Materia seca	89 -91.5	86	89
Proteína cruda	6 - 10.	8 - 9.	9.8 – 10
Fibra bruta	1.11 - 2.9	2.0 - 2.2	2.0 - 3.5
Extracto de éter	7.87- 14.80	3.5 - 3.8	4.4
Extracto sin nitrógeno	67 – 82	--	--
Energía metabolizable (Kcal / kg)	3,275 - 3,454 *	3,330 - 3,514	2,650 - 3,464
Referencia	1, 2, 3, 4, 5, 6	3,7,8	7,8

\* Valor para la semilla de mango hervido

1: Sandhu and Lim(48); 2: Fowomola(49); 3: Diarra et al.,(18); 4: Odunsi(50); 5: Dakare et al.,(51); 6: Kittiphoom(52); 7: Jadhav and Siddiqui(53); 8: Damron(54)

La harina de semilla de mango (HSM) es una buena fuente de almidón (58-80%)(48,55) y tiene un alto contenido de grasas<sup>(18)</sup> que se combinan para proporcionar un valor de energía metabolizable (ME) comparable al del maíz<sup>(18)</sup>. Sin embargo, se informa que los carbohidratos contenidos en MSK son poco digeridos por las aves de corral. Ravindran y Rajaguru<sup>(56)</sup> informaron que solo el 52.5% de los carbohidratos de HSM fueron metabolizados por las aves de corral. El contenido de proteínas de HSM seco ( 6-13 %)<sup>(18,50,56)</sup> es comparable a la del maíz y tiene un buen perfil de aminoácidos esenciales , especialmente en términos de lisina y metionina<sup>(49)</sup> (Tabla 3).

Tabla 3. Perfil de aminoácidos esenciales de harina de semilla de mango (HSM), maíz, granos de sorgo y harina de soya.

Aminoácidos esenciales	HSM	Maíz	Sorgo	Harina de Soya
Lisina	3.13 - 5.0	0.26	0.22	2,22
Metionina	1.04 - 2.2	0.17	0.17	0,53
Treonina	2.04 - 4	0.29	0.31	1.41
Arginina	5,17 - 9.0	0.37	0.38	2,60
Valina	3.80 - 5.2	0.39	0.46	1.68
Histidina	2,31 - 2.7	0.23	0.23	0.96
Fenilalanina	4.46 - 4.60	0.39	0.49	1.83
Isoleucina	3,23 - 4.60	0.28	0.37	1.61
Referencias	1, 2, 3	4	4	4

1: Fowomola(49); 2: Jadhav and Siddiqui(53); 3: Kittiphoom(52); 4: NRC(57)

La comida de HSM es moderadamente rica en aceite (6-16%)<sup>(18)</sup>, lo cual es una buena idea. fuente de ácidos esteárico (24-57%) y oleico (34-56%) que se pueden fraccionar para producir oleína y estearina<sup>(58)</sup>.

#### **2.1.5.2. Efectos del procesamiento sobre el contenido de factores antinutricionales (ANF) de harina de semilla de mango (HSM).**

Se han investigado los efectos de diferentes métodos de procesamiento en la reducción de ANF en HSM. El remojo y la ebullición se informó que significativamente reducir el contenido de ANF de HSM. Una ventaja adicional de remojar o hervir se vio como un aumento en el contenido de ME del kernel<sup>(13,18)</sup>. Ravindran y Sivakanesan<sup>(13)</sup> observaron un aumento en el ME de 7.9 MJ / kg de MS en el grano crudo seco a 10.3 MJ / kg de DM en los granos hervidos y remojados. El aumento libre de nitrógeno, el extracto (carbohidratos solubles) observado en los granos procesados en comparación con los granos crudos<sup>(13,18,51)</sup> probablemente se debió a la descomposición de las fracciones de carbohidratos complejos. Recientemente, Amao y Siyanbola<sup>(19)</sup> informaron un aumento en el contenido de ME en el HSM tratado con calor seco en comparación con el HSM sin procesar.

El Boushy y Van Der Poel<sup>(59)</sup> observaron que el remojo fue más eficiente en la eliminación de taninos de HSM de tratamiento de ebullición, ácido o álcali. En otro informe, Ravindran y Sivakanesan<sup>(13)</sup> encontraron ebullición sea más eficiente en la eliminación de taninos y ácido fulmínico (HCN) en comparación con el remojo. El tratamiento con ácido seguido de un tratamiento alcalino eliminó todos los taninos y gran parte de los glucósidos cianogénicos de MSK<sup>(60)</sup>. Dakare et al.,<sup>(51)</sup> informaron una reducción significativa del tanino, el HCN, la actividad inhibidora de la tripsina y el oxalato en ebullición en comparación con el MSK empapado, mientras que la ebullición en álcali fue la más eficiente en la reducción del contenido de ácido fítico. Los autores observaron que la cocción después del remojo redujo aún más la concentración de estos factores en el mango.

#### **2.1.5.3. Alimentación en pollos de engorde.**

La alimentación de harina de semilla de Mango (HSM) a pollos de engorde está bien documentada. Patil et al.,<sup>(60)</sup> observaron que

reemplazar el 14.1% de maíz dietético con HSM crudo no tuvo efectos adversos en el crecimiento de pollos de engorde, pero el reemplazo de 28.2% causó que el crecimiento se viera afectado adversamente. En corroboración, Teguia<sup>(61)</sup> informó efectos adversos sobre el aumento de peso y el consumo de alimento de los pollos de engorde alimentados con un 20% de HSM molido como reemplazo del maíz. Recientemente, Amao y Siyanbola<sup>(19)</sup> observaron el consumo de alimento significativamente inferior, mayor peso corporal y mejor conversión del alimento en los pollos de engorde. Alimentación con 30% calor seco tratado HSM como un reemplazo para el maíz en comparación con el maíz alimentado grupo de control.

Hay informes que muestran que las pérdidas de rendimiento en aves alimentadas con HSM crudas por encima del 10% de la dieta (como reemplazo del maíz) se redujeron con el procesamiento<sup>(18,50)</sup>. Odunsi<sup>(50)</sup> observó depresión significativa del crecimiento no puede en pollos alimentados más de 10% en bruto HSM como un reemplazo para el maíz, mientras que la sustitución del 20% con empapado HSM no tuvo efectos adversos sobre el crecimiento de pollos de engorde. Del mismo modo, Joseph y Abolaji<sup>(62)</sup> no observaron reacciones adversas.

Los efectos de la alimentación 10% en bruto o 20% de semilla de mango hervida como un reemplazo para el maíz en el rendimiento de pollos de engorde (consumo de alimento, ganancia de peso y alimentar eficiencia). El sabor amargo de HSM se ha atribuido principalmente a la presencia de taninos<sup>(13,63)</sup>. Ravindran y Sivakanesan<sup>(13)</sup> observaron mejoras en el rendimiento de los pollos de engorde con HSM procesado en paralelo con la reducción de taninos, lo que indica que los taninos son en gran parte responsables del pobre valor nutritivo del HSM crudo.

Se ha informado el efecto de la edad en la capacidad de las aves para tolerar la HSM en la dieta. Diarra y Usman<sup>(64)</sup> observaron que la sustitución de maíz 20% con HSM prima en pollos de engorde dietas fue significativo en el rendimiento durante la fase de arranque que

se compensa durante la fase final; lo que sugiere que la capacidad de los pollos de engorde para utilizar harina de semilla de Mango (HSM) aumenta con la edad. Del mismo modo, Diarra et al.,<sup>(18)</sup> informaron que la sustitución de 50 y 70% de maíz en la dieta con HSM hervido en la fase de arranque y final de pollos de engorde fueron significativamente respectivamente en el costo de alimentación sin efectos adversos sobre el crecimiento y la utilización del alimento.

### **III. MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **3.1. MATERIALES**

##### **3.1.1. MATERIAL BIOLÓGICO**

Pollos Cobb 500

##### **3.1.2. MATERIAL DE LABORATORIO.**

Agua destilada

Formol al 10%

Etanol 70°

Etanol 96°

Etanol absoluto

Material de disección

Recipientes esteriles para muestra

Guantes

Mascarilla

Redecilla

Hematoxilina y Eosina

Porta Objetos

Cubre objetos

Xylol

Xyleno

Alcohol

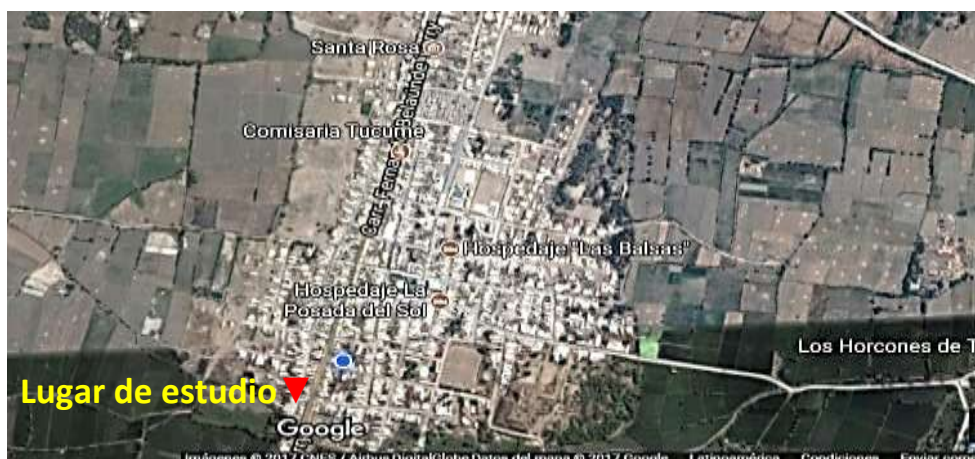
Microtomo de Minot

### 3.2. DISEÑO METODOLOGICO.

#### 3.2.1. Lugar de estudio

La investigación se realizó en un galpón en el distrito de Túcume, departamento y provincia de Lambayeque, ubicada a 6°30'22" latitud sur y 79°51'26" latitud oeste. Los pollos de la línea Cobb 5000 se empezó a criar desde el mes de Diciembre del 2018 hasta Febrero 2019, con una temperatura de 29 - 31°C. La latitud sobre el nivel del mar es de 46 m<sup>(65)</sup>; 85 % de humedad relativa; 41 mm de precipitación. La variación en la precipitación entre los meses más secos y más húmedos es 25 mm. <sup>(66)</sup>.

Figura 12. Mapa satelital del lugar de estudio: Túcume – Lambayeque.



Fuente: Googlemaps<sup>(67)</sup>

#### 3.2.2. Adecuación del galpón.

El galpón experimental se adecuó 15 días antes de la llegada dividiéndolo en cuatro corrales pequeños para la puesta de los pollos empleados en la presente investigación. Las actividades de desinfección se realizó a través de fumigación dejando secar por un día y posteriormente se roció cal todo el piso dejándolo 15 días, luego se introdujo cama a base de pajilla de arroz de 10 cm de profundidad., con su respectivo comedero y bebedero y por último cada uno de los tratamientos fueron identificados.

Figura 13. Instalación del galpón experimental



### 3.2.3. Procesamiento de semilla de mango

Las semillas de mango fueron adquiridas de una procesadora industrial “A&B”, ubicada en el distrito de Motupe – Lambayeque; las semillas fueron almacenadas durante 45 días y se sometieron a una temperatura de 100°C (Figura 14) para eliminar las sustancias anti nutricionales que contiene la semilla de mango<sup>(18)</sup>.

Figura 14. Proceso de hervido en semillas de mango.



Figura 15. Almacenaje y secado de semillas de mango



Las semillas de mango fueron sometidas a molinaje, empleando un molino de martillo (Figura 16), y conservación a temperatura ambiente.

Figura 16. Molienda de semilla de mango



#### **3.2.4. Análisis bromatológico de harina de semilla de mango**

La composición bromatológica y el fraccionamiento de la fibra de harina semillas de mango se realizaron en el Laboratorio de Análisis de Físico Químico de Alimentos de la Facultad de Industrias Alimentarias de la Universidad Nacional Agraria la Molina, Perú, evaluando los siguientes indicadores: Humedad, ceniza, grasa, Proteína, Fibra, Carbohidratos totales (Tabla 4).

Tabla 4. Análisis bromatológico de harina de semilla de mango.

Indicadores	X±S
Humedad	8.66±0.12
Ceniza	2.14±0.04
Grasa	11.66±0.06
Proteína	5.63±0.19
Fibra	2.39±0.08
Carbohidratos totales	72.02±0.17
Energía (Kcal)	3331.90 ± 0.24

Fuente: Laboratorio de Industrias Alimentarias de la Universidad Nacional Agraria La Molina

Se trabajó con 4 tratamientos y se formularon dietas para cada uno de ellos, cumpliendo los requisitos recomendados por el NRC (1994)<sup>(57)</sup> y fueron isoproteicas para los grupos experimentales e isoenergéticas solo para los tratamientos con el 10 y 25% HSM. Las dietas que se elaboraron fueron para las fases de producción: Inicio, Crecimiento y Acabado (Tabla 5, 6 y 7).

Tabla 5. Composición, aporte y costo de las dietas en la fase de Inicio de pollos Cobb 500.

Ingredientes	Niveles de harina de semilla de mango (%)			
	0	10	25	50
Harina de semilla de Mango	0.00	10.00	25.00	50.00
Harina de Maíz	58.13	47.68	31.25	3.00
Harina de soya	37.00	37.90	39.15	41.50
Aceite de soya	1.00	0.90	1.40	2.40
Fosfato di cálcico	1.00	1.70	1.46	1.76
Carbonato de Calcio	1.55	1.00	0.9	0.5
Sal	0.10	0.10	0.1	0.1
Metionina 99%	0.21	0.22	0.24	0.24
Lisina 99%	0.01	0.001	0.001	0.001
Poultry Grow 250	1.00	0.50	0.7	0.5
Costo de las dietas s/. (kg)	1.73	1.52	1.36	1.11
Aporte (%)				
EM (Kcal/kg)	3067.15	3047.02	3046.53	3035.44
Proteína Bruta (%)	23.00	23.05	23.01	23.01
Calcio (%)	0.99	0.98	0.90	0.86
Fosforo disponible (%)	0.39	0.47	0.40	0.40
Fibra Bruta (%)	2.46	2.50	2.54	2.59
Lisina	1.25	1.25	1.25	1.25
Metionina	0.59	0.58	0.58	0.54
Extracto Etéreo	3.91	3.90	3.95	4.30

Tabla 6. Composición, aporte y costo de las dietas en la fase de Crecimiento de pollos Cobb 500.

Ingredientes	Niveles de harina de semilla de mango (%)			
	0	10	25	50
Harina de semilla de Mango	0.00	10.00	25.00	50.00
Harina de Maíz	67.00	55.75	39.70	10.90
Harina de soya	29.05	30.00	31.20	33.85
Aceite de soya	0.00	0.40	0.80	2.00
Fosfato di cálcico	0.67	0.67	0.60	0.72
Carbonato de Calcio	1.60	1.5	1.5	1.4
Sal	0.15	0.15	0.15	0.15
Metionina 99%	0.15	0.15	0.15	0.20
Lisina 99%	0.08	0.08	0.08	0.080
Poultry Grow 250	1.3	1.3	0.82	0.7
Costo de las dietas s/. (kg)	1.79	1.59	1.36	1.23
Aporte (%)				
EM (Kcal/kg)	3087.46	3084.99	3086.21	3084.03
Proteína Bruta (%)	20.05	20.02	20.00	20.08
Calcio (%)	0.90	0.87	0.87	0.91
Fosforo disponible (%)	0.35	0.32	0.28	0.25
Fibra Bruta (%)	2.40	2.43	2.47	2.52
Lisina	1.09	1.07	1.07	1.08
Metionina	0.49	0.47	0.45	0.46
Extracto Etéreo	3.10	3.58	3.88	4.04

Tabla 7. Composición, aporte y costo de las dietas en la fase de Engorde de pollos Cobb 500.

Ingredientes	Niveles de harina de semilla de mango (%)			
	0	10	25	50
Harina de semilla de Mango	0.00	10.00	25.00	50.00
Harina de Maíz	72.70	60.00	45.15	17.20
Harina de soya	23.95	25.40	26.10	28.65
Aceite de soya	1.12	0.00	0.00	1.00
Fosfato di cálcico	0.40	0.95	0.60	0.70
Carbonato de Calcio	1.45	1.47	1.25	1.10
Sal	0.15	0.20	0.20	0.15
Metionina 99%	0.05	0.20	0.20	0.20
Lisina 99%	0.02	0.08	0.10	0.050
Poultry Grow 250	0.86	1.7	1.4	1.00
Costo de las dietas s/. (kg)	1.64	1.64	1.40	1.08
Aporte (%)				
EM (Kcal/kg)	3077.82	3085.58	3080.98	3083.15
Proteína Bruta (%)	18.00	18.20	18.05	18.14
Calcio (%)	0.75	0.92	0.76	0.77
Fosforo disponible (%)	0.31	0.36	0.29	0.25
Fibra Bruta (%)	2.35	2.37	2.43	2.49
Lisina	0.90	0.94	0.94	0.92
Metionina	0.36	0.50	0.47	0.39
Extracto Etéreo	4.31	4.45	4.52	5.21

### **3.2.5. Necropsia**

Las aves por cada fase productiva se sacrificaron utilizando la siguiente técnica <sup>(68)</sup>:

a) Humedecer las plumas del ave con una solución de agua más un antiparasitario externo para eliminar a piojos, pulgas y garrapatas.

b) Dejar al ave en una superficie inclinada para que pierda gran parte del agua que usaron para bañarla, durante 5 minutos.

c) Hacer un piquete con la tijera en la piel que está inmediatamente después de la punta de la Quilla del Esternón, a nivel de la Línea Media. Continúen por la línea media, hasta llegar cerca al buche, en donde tienen que cortar con mucho cuidado porque la piel tiene poca grasa en el estrato subcutis y la pared de esta parte del esófago está muy cerca de la piel; terminan el corte en el vértice del pico inferior.

d) El piquete que se hizo, dirigirlo hacia atrás por la línea media y enseguida divulsionar para separar la piel del Abdomen. A nivel de la mitad de la quilla, el corte medial extiéndalo a la derecha e izquierda por la parte craneal de cada pierna, hasta llegar a los dedos y separar la piel completamente.

e) Con los dedos índice y Pulgar de cada mano coger cada muslo y hacer palanca para separar la cabeza de cada Fémur de su respectiva Fosa Acetabular del Cinturón Pelviano, para darle estabilidad al ave objeto de estudio.

f) Cortar hacia adelante, a medida que divulsiona y exponer los órganos que se ubican a lo largo del cuello: Esófago Anterior y Bucle, Tráquea, Timo y las glándulas Tiroides y Paratiroides, vasos sanguíneos y nervios, hasta llegar a la ranfoteca del vértice del pico inferior.

g) Con la tijera cortar los músculos de la pared abdominal, a la altura de la punta de la Quilla, lo continúan en dirección caudal por la Línea Media, divulsionar para separar los diferentes tejidos componentes. Posteriormente

incidir en el Peritoneo para exponer el tejido adiposo y los Sacos Aéreos que cubren las vísceras celómicas.

**h)** Ubicar las articulaciones Costo condrales de ambos lados y las cortan, con los músculos aledaños: Costo esternal, Externo Coronal, Sub Coracoideo y la parte interna del Sub escapular, evitando hacerlo más dorsal para no seccionar los pulmones.

**i)** Cortar después la articulación de los huesos Coracoides, Fúrcula, Clavícula y Húmero de ambos lados y retiren el pecho con todos sus huesos, músculos y articulaciones.

**j)** Retirar la mitad del Tórax con todos sus huesos, músculos y articulaciones y tienen así los órganos de los diferentes aparatos disponibles, según el estudio que les toque realizar.

**h)** Se extraerá el hígado y bazo para visualizar y poder trabajar con el intestino.

**i)** Se abrirá el intestino con tijera, examinando contenido, mucosa, etc.

**j)** Se identificará y se separará las secciones del intestino delgado (Duodenos, Yeyuno e Íleon) y grueso (Ciego y Colon).

Figura 17. Necropsia de los pollos Cobb 500 alimentados con diferentes niveles de Harina de semilla de Mango (HSM)

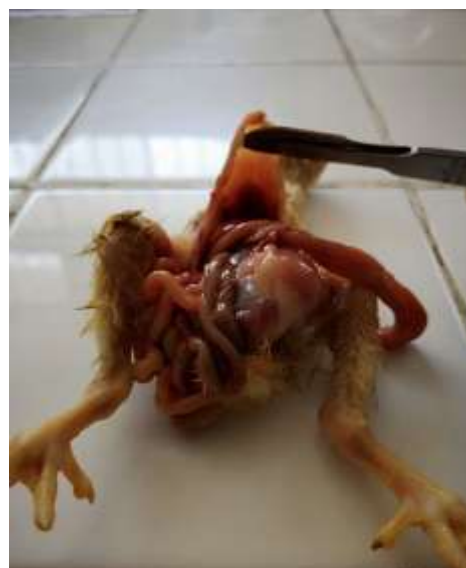


Figura 18. Segmentos intestinales de los pollos Cobb 500 alimentados con diferentes niveles de Harina de semilla de Mango (HSM)



### 3.2.6. Histotecnología

Las muestras de tejido intestinal (Duodeno, yeyuno, Íleon y ciego) conservadas en formol, se prepararon para la realización de cortes histológicos, mediante la inclusión de parafina. Los bloques de parafina se cortaran a 10  $\mu$ m y las muestras se fijaran en portaobjetos, posteriormente los portaobjetos se van a teñir con Hematoxilina – eosina, descrita por Uni et al., citado por Choque, (2008)<sup>(33)</sup>.

Las láminas histológicas fueron sometidas al análisis con microscopía óptica y con ayuda de un software especializado se tomaron las medidas por campo correspondientes. Las secciones histológicas se examinaron con un microscopio óptico y el analizador de imágenes digital ZEN 2012 Blue edition<sup>®</sup>

#### 3.2.6.1. Procesamiento histotecnológico de tejidos

El proceso histológico consta de una serie de métodos y técnicas utilizados para poder estudiar las características morfológicas y moleculares de los tejidos, el procedimiento se tomó en consideración la técnica propuesta por Montalvo <sup>(69)</sup>.

##### A. Fijación

Fijar un tejido es preservar sus características morfológicas y moleculares lo más parecidas posibles a las que poseía en estado vivo. Las muestras se fijan

en solución de formalina tamponado al 10% por espacio de 6 a 10 horas, posteriormente se lavan a fondo en agua corriente del grifo.

### **B. Deshidratación**

Las muestras, una vez fijadas, se deshidratan cuidadosamente con alcohol. El alcohol se elimina por tratamiento con productos intermedios solubles en alcohol y parafina, como son el xileno y sustitutos del xileno. Esto asegura que el tejido quede completamente impregnado con parafina, y después de la inclusión en bloque, se pueda cortar mejor.

Tabla 8. Etapas de deshidratación para el proceso de láminas histológicas

<b>Etapas</b>	<b>Baño</b>	<b>Tiempo De Procesamiento</b>
Fijación	Formalina Tamponada Al 10%	6 A 10 Horas
Deshidratación	Etanol De 70°	2 Horas
	Etanol De 96°	2 Horas
	Etanol Absoluto	2 Horas
	Etanol Absoluto	1 Hora
	Etanol Absoluto	1 Hora
Aclarado	Xileno	1 Hora
	Xileno	1 Hora
	Xileno	1 Hora
Inclusión	Parafina	1 Hora
	Parafina	1 Hora
	Parafina	2 Hora

### **C. Inclusión**

La inclusión es el método más común de endurecer el tejido y consiste en infiltrar la muestra con sustancias líquidas que tras un proceso de polimerización o enfriamiento se solidifican, sin afectar a las

características del tejido. Con ello se consigue obtener cortes delgados (desde decenas de  $\mu\text{m}$  a  $\text{nm}$  según el medio de inclusión) sin que el tejido se rompa o se deteriore. Cuando se quieren hacer secciones para su observación con el microscopio óptico los medios de inclusión más utilizados son la parafina o la celoidina, si se van a realizar observaciones con microscopio electrónico la inclusión se realiza con resinas, principalmente de tipo acrílicas o epoxy.

#### **D. Corte**

El corte es un paso importante en la preparación, ya que para observar las características tisulares y celulares microscópicas internas se utilizan microscopios ópticos o electrónicos de transmisión. Con estos equipos solo se pueden observar grosores muy pequeños de tejido por problemas de difusión y penetración de la luz en el caso de los microscopios ópticos y de penetración de los electrones en el caso del microscopio electrónico de transmisión. Los equipos para hacer secciones de un grosor de micrómetros se denominan micrótomos y existen diferentes tipos según el grosor que se requiera de la muestra, el medio de inclusión en el que se encuentre el tejido o si se ha endurecido por congelación o por inclusión. Se utiliza el micrótomo para material incluido en parafina para observaciones con el microscopio óptico y el ultramicrotomo para observaciones con el microscopio electrónico de transmisión.

#### **E. Coloración de Hematoxilina –Eosina (H&E)**

La coloración de hematoxilina - eosina se considera como la técnica de tinción de uso más frecuente en el estudio de células y tejidos, a través del microscopio fotónico. Consiste en la tinción de: a) los núcleos mediante una hematoxilina, previamente oxidada y transformada en hemateína a la que se le añade una sustancia mordiente para formar una laca (para tal fin se usan sales metálicas de aluminio, plomo o hierro). Los núcleos se colorean de azul, azul morado, violeta, pardo oscuro o negro, dependiendo de los agentes oxidantes y mordientes que se utilizaron, b) el citoplasma y material extracelular utilizando la eosina que les confiere diversos grados

de color rosado. El procedimiento de coloración de H & E se tomó en consideración la técnica propuesta por Montalvo<sup>(69)</sup>.

1. Desparafinar los cortes en

- xilol ----- 3 minutos

- xilol ----- 3 minutos

2. Hidratar los cortes en baños decrecientes de alcohol

- alcohol de 70°C ----- 3 minutos

3. Colorear con la solución de hematoxilina. En este paso es conveniente respetar el tiempo de coloración que recomienda cada tipo de solución de hematoxilina. Dependiendo de la fórmula de preparación el tiempo puede variar de 3 a 20 minutos.

La hematoxilina de uso más frecuente es la hematoxilina alumínica de Harris -----3 a 5min.

4. Lavado en agua destilada (2 baños) -----un minuto cada uno.

5. Diferenciar, para eliminar el exceso de colorante, se emplea el alcohol ácido, hasta que los núcleos y los componentes basófilos de las células sean lo únicos que permanezcan teñidos

- lavar en agua corriente----- 2 minutos.

6. Virar al color azul, empleando soluciones de:

❖ Sustancias alcalinas como agua amoniacal

❖ Solución de bicarbonato de sodio al 2%

❖ Carbonato de litio al 1%.

- lavar en agua corriente ----- 5 minutos

- lavar en agua destilada (2 baños) -----1 minuto c/u.

7. Colorear con una solución alcohólica o acuosa de eosina----- 3 a 5 minutos

8. Deshidratar en baños crecientes de alcohol etílico

- alcohol de 70° ----- 1 minuto

9. Diafanizar o aclarar empleando xilol

- xilol ----- 1 minuto

- xilol ----- 2 minutos

Concluido el proceso de la tinción de los cortes, éstos se deben colocar en condiciones de protección y de poderlos utilizar infinidad de veces sin que se deterioren. Para alcanzar tales propósitos se recurre al último procedimiento que es el montaje. Este procedimiento consiste en colocar encima del corte coloreado y diafanizado una gota de una sustancia adherente, diluida, generalmente en xilol (resina natural como el bálsamo de Canadá o resinas sintéticas, cuyos índices de refracción son similares a los del vidrio) y encima de ellos, una laminilla cubreobjetos, cuidando que no queden burbujas de aire entre la resina. A continuación, se deja que el xilol se evapore, y la resina adquiera solidez suficiente; para ello las láminas se colocan en una platina caliente (45 o 50o C) durante 24 a 48 horas y estarán listas para ser observadas.

### **3.2.7. Integridad epitelial intestinal.**

Las características histomorfológicas del intestino delgado, ciegos de pollos Cobb 500 alimentados con diferentes niveles de Harina de semilla de Mango (HSM) se evaluaron y compararon teniendo en consideración la metodología propuesta por Gutiérrez C. y Herrera JM, Huberman Y, Felipe A <sup>(14, 67)</sup>:

- Grado 0 = sin alteraciones en la mucosa, criptas y vellosidades de morfología normal, con el epitelio completo, y escasos linfocitos intraepiteliales.

- Grado 1 = alteraciones leves en las vellosidades con morfología normal, pero con el epitelio alterado y/o desprendido hacia el extremo, e infiltrado linfocitario leve, en epitelio y/o en lámina propia.

- Grado 2 = alteraciones moderadas en las vellosidades con morfología alterada pero aún identificable, e infiltrado moderado intraepitelial y en lámina propia.

- Grado 3 = alteraciones severas en las vellosidades con severas alteraciones, perdiendo su histomorfología clásica, y severo infiltrado linfocitario.

Esta descripción se realizó a través de la arquitectura de las estructuras y las diferencias histológicas encontradas.

#### IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El corte panorámico transversal del colectivo celular del duodeno a 100X con tinción H&E se observa en la Figura 19, en pollos Cobb 500 alimentados con diferentes niveles de harina de semilla de mango (HSM) observándose diferenciación marcada de las tunicas del segmento intestinal duodeno:

La serosa cuya arquitectura contiene la arteria (Ar) y vena (V), túnica que también presenta células adiposas que no se perciben en esta imagen, capa externa que tiene como función recubrir la superficie del intestino delgado tal como indica Kierszenbaum, A. L.<sup>(71)</sup>.

La muscular (Ms) constituida por dos planos de fibras musculares lisas, cuyo plano superficial pertenece a la muscular longitudinal externa (Ms.L.Ex.) y el plano profundo es la Muscular circular interna (Ms.C.I.) con mayor espesor a la anterior; entendiéndose que entre estas dos capas musculares se localiza la muscular de la mucosa (Ms.Mu) que contiene los plexos submucoso o de Meissner que favorecen los movimientos de contracción del musculo liso llamado peristaltismo intestinal<sup>(72)</sup>.

La túnica submucosa del duodeno (Figura 19-A, 100X) muestra su estructura delgada conformada por tejido conectivo denso, estructura que debe de contener fibras colágenas, elásticas y vasos sanguíneos procedentes de ramificaciones de la arteria celíaca, tanto de su rama derecha como izquierda que no se perciben en esta imagen pero es sustentada por los diversos investigadores Kuru<sup>(73)</sup>; Rezk y El-Bably<sup>(74)</sup>. La diferencia entre la submucosa duodenal en aves con respecto a los mamíferas es que las primeras no presentan glándulas submucosas o de Brünner, a diferencia de lo que se puede observar en mamíferos tal como lo señalan <sup>(75-78)</sup>. Posiblemente, la abundancia de células secretoras de mucus en la superficie del epitelio y porción apical de las glándulas en la zona de transición entre ventrículo e intestino compense la ausencia de las glándulas submucosas y de una estructura de función análoga al píloro de mamíferos<sup>(76)</sup>.

La túnica mucosa del duodeno (Figura 19-A, 100X) muestra proyecciones digitiformes (evaginaciones) conocido como Vellosidades intestinales (VLL), cuya longitud varía con la especie, la actividad fisiológica y dieta tal como lo señalan investigadores como Alan<sup>(43)</sup> y Zanuzzi<sup>(41)</sup> cuya forma, tamaño y número varían en toda la extensión del intestino; en la presente investigación el duodeno presenta dos formas de las vellosidades, una en forma de dedo en pollos jóvenes 7 y 21 días mientras que los pollos a los 42 días están dispuestas en zig-zag, estas últimas es muy importante ya que retrasa el paso de la digesta sobre la mucosa digestiva mejorando su contacto con el epitelio obteniendo mejores tasas de digestión y absorción, y es además característica de animales en buen estado de salud, tal como lo indica Van et al.<sup>(34)</sup>. En esta investigación el tratamiento que mejor presento las vellosidades dispuestas en zig-zag fue en los pollos alimentados con el 25% de HSM (Figura 19 C).

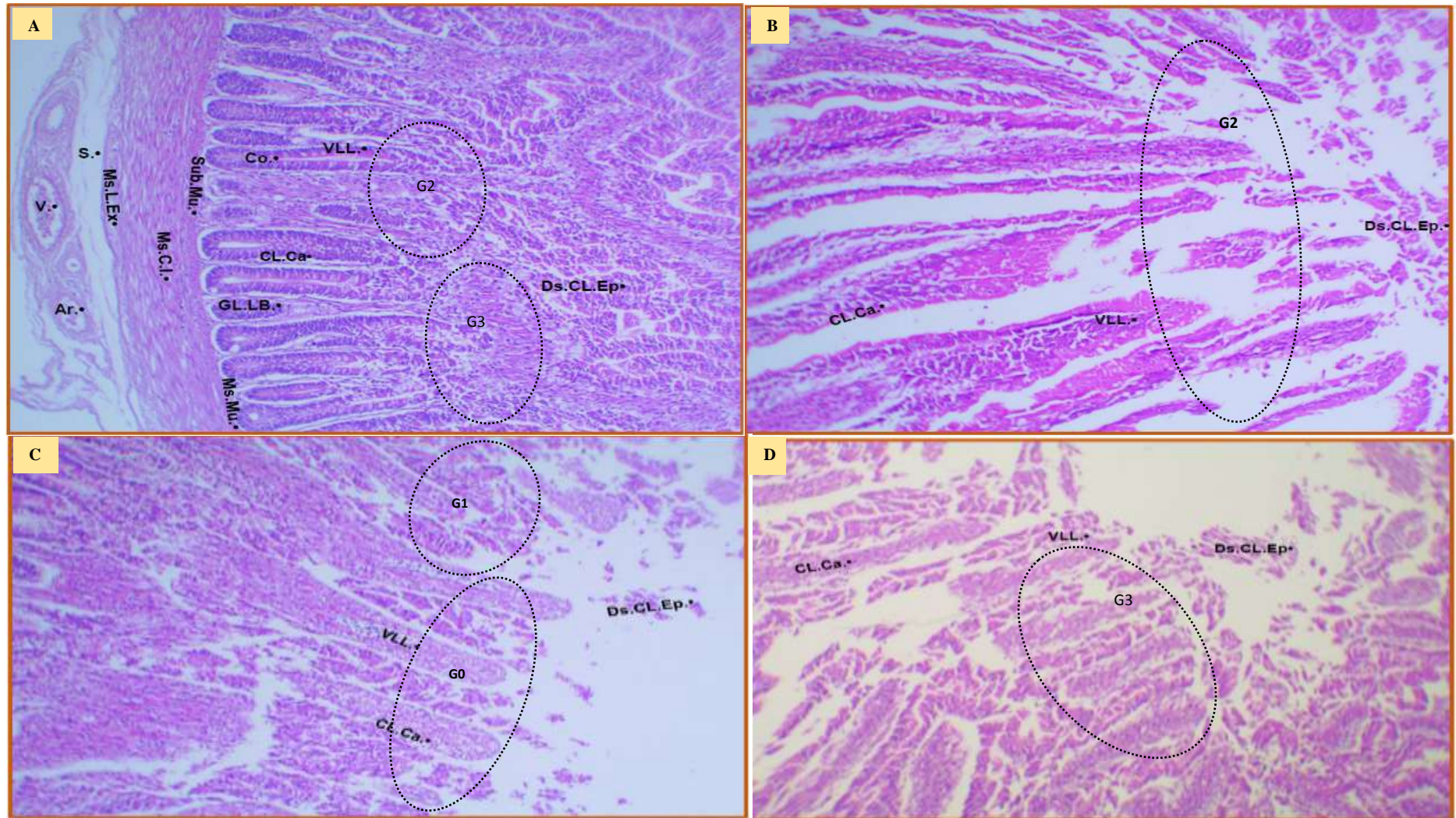
Se observó entre las vellosidades (VLL) las criptas de Liberium (GL.LB) o glándulas intestinales cortas y ligeramente sinuosas. En esta investigación se observó una crecida presencia de criptas para el grupo de pollos alimentados con el 25% de HSM, coincidiendo con lo reportado por Hall<sup>(32)</sup> que indica que un aumento de estas glándulas está relacionado con el número de vellosidades y es un buen indicativo de un buen estado de salud.

Diferentes investigadores Ferrufino J, Taxa L y Gladis A.<sup>(44)</sup> describen que la mucosa presenta un epitelio, lámina propia y muscular de la mucosa; interpuestas entre las células de absorción (entrecitos) se encuentran las células caliciformes (CL.Ca) con gota de mucina ácida y neutral a nivel apical, que les da forma de una copa o cáliz, estas secretan una glucoproteína llamada “mucina” que mantiene un ambiente viscoso y húmedo a la superficie epitelial tal como se observa en la Figura 19 A.

La diferencia de la integridad de las vellosidades duodenales de pollos Cobb 500 alimentados con diferentes niveles de HSM, evaluados a través de la escala (Grado 0, 1, 2 y 3) propuesto por Gutiérrez C. y Herrera JM, Huberman Y, Felipe A (14, 67) se observó que el grupo control (Figura 19 A1 y A2) se encontró en Grado 2 (G2) y Grado 3 (G3) presentando alteraciones de moderadas (infiltración intraepitelial) a severas (perdida su histomorfología clásica) respectivamente; en comparación al grupo de pollos que recibieron el 25% (Figura

19 C) no muestra alteraciones clasificándolo en el Grado 0 es decir sin alteraciones en su mucosa, criptas y vellosidades, con epitelio completo; sin embargo en los pollos alimentados con 10% se observó lesiones de mayor extensión, aun identificándose vellosidades (Grado 2) para determinarse la perdida completa de la arquitectura de las vellosidades intestinales en el grupo del 50% mostrando un Grado 3.

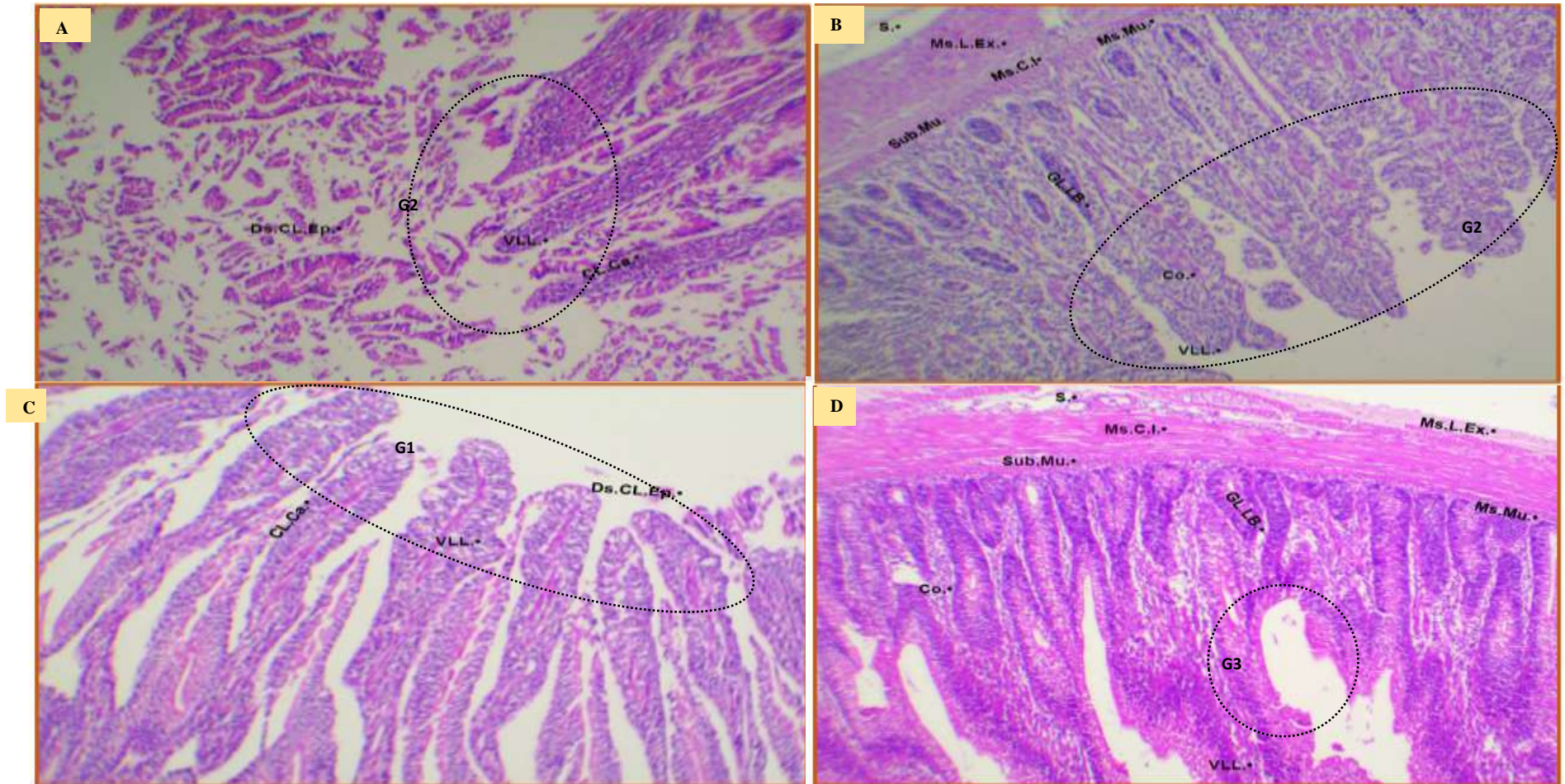
Figura 19. Microfotografía transversal del Duodeno en Pollos Cobb 500 alimentados con diferentes niveles de Harina de Semilla de Mango (HSM), en el día 7.



S.: Serosa, V.: Vena, Ar.: Arteria, Mu.: Muscular, Ms.L.Ex.: Muscular longitudinal externa, Ms.C.I.: Muscular circular interna, Sub.Mu.: Submucosa, Ms.Mu.: Muscular de la mucosa, Co.: Corion o lamina propia, GL.LB.: Glándulas de Liberkuhn, VLL.: Vellosoidades intestinales, CL.Ca.: Células caliciformes Ds.CL.Ep.: Descamación de células epiteliales. H-E.: 100; G0= grado 0; G1= grado 1; G2= grado 2; G3= grado 3; A: 0% HSM, B: 10% HSM, C: 25% HSM, D: 50% HSM

La integridad de las vellosidades duodenales de pollos Cobb 500 alimentados con diferentes niveles de HSM a los 22 días de edad, se observó que el grupo control (Figura 20 A) se encontró en Grado 2 (G2) presentando alteraciones de moderadas (infiltración intraepitelial); en comparación al grupo de pollos que recibieron el 25% (Figura 20 C) no muestra alteraciones clasificándolo en el (Grado 0) es decir sin alteraciones en su mucosa, criptas y vellosidades, con epitelio completo; sin embargo en los pollos alimentados con 10% se observó lesiones de mayor extensión, aun identificándose vellosidades (Grado 2) para determinarse la pérdida completa de la arquitectura de las vellosidades intestinales en el grupo del 50% mostrando un(Grado 3).

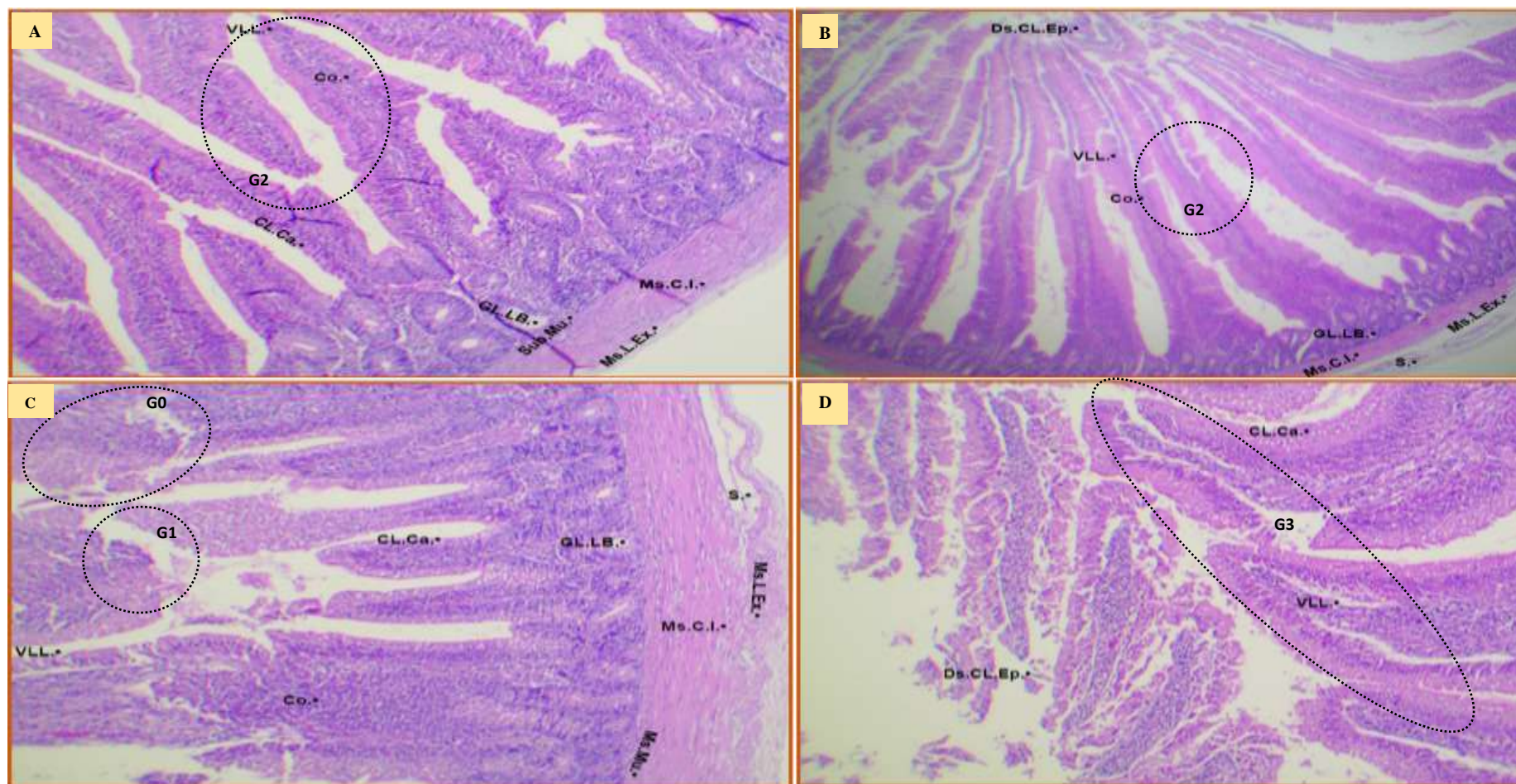
Figura 20. Microfotografía transversal del Duodeno en Pollos Cobb 500 alimentados con diferentes niveles de Harina de Semilla de Mango (HSM), en el día 22.



S.: Serosa, Ms.L.Ex.: Muscular longitudinal externa, Ms.C.I.: Muscular circular interna, Sub.Mu.: Submucosa, Ms.Mu.: Muscular de la mucosa, Co.: Corion o lamina propia, GL.LB.: Glándulas de Liberkühn, VLL.: Velloidades intestinales, Ds.CL.Ep.: Descamación de células epiteliales. H-E.: 40X- 100X; G0= grado 0; G1= grado 1; G2= grado 2; G3= grado 3; A: 0% HSM, B: 10% HSM, C: 25% HSM, D: 50% HSM.

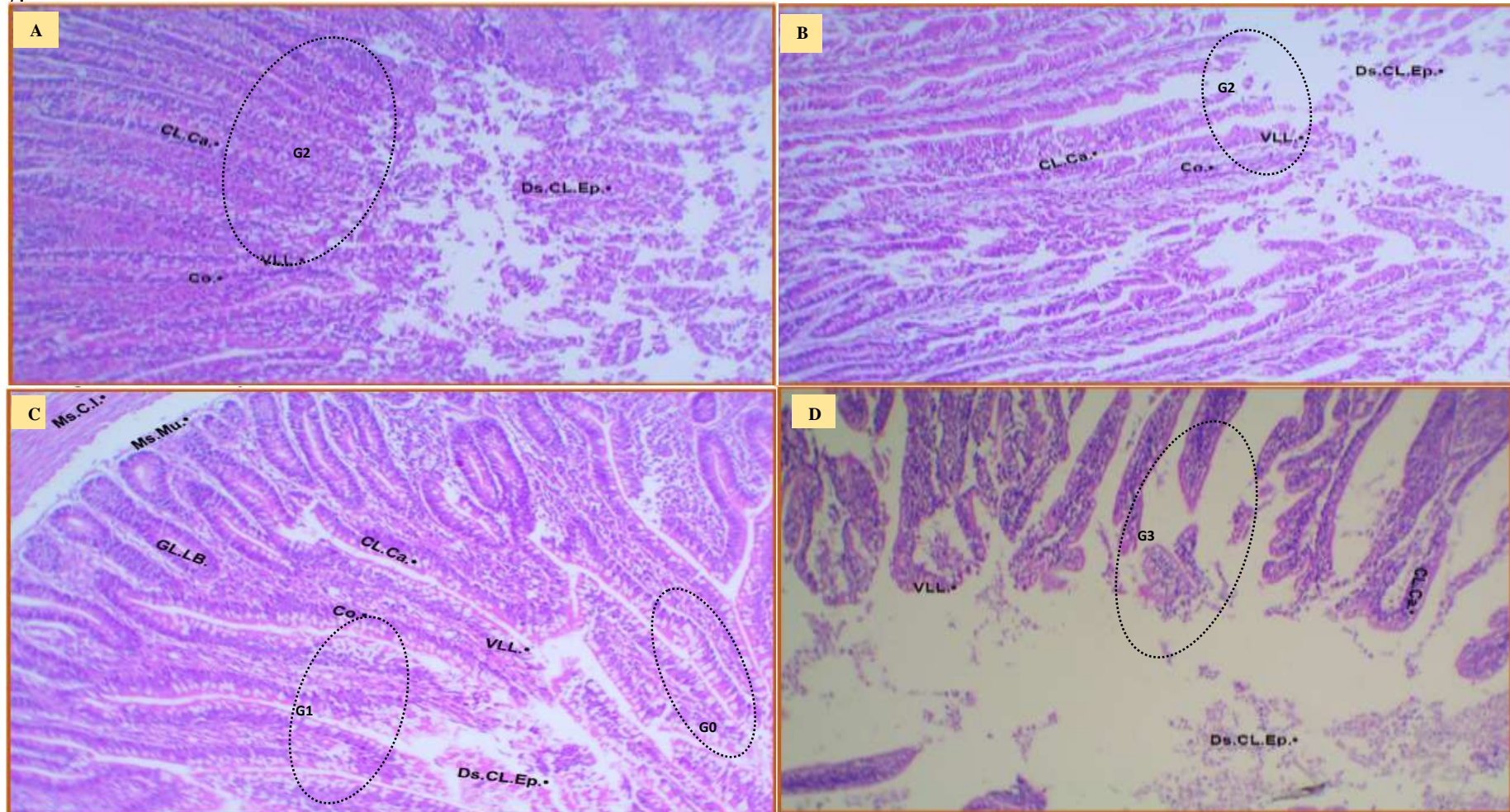
La integridad de las vellosidades duodenales de pollos Cobb 500 alimentados con diferentes niveles de HSM a los 42 días de edad, se apreció que el grupo control (Figura 22 A) se encontró en Grado 2 (G2) presentando alteraciones de moderadas (infiltración intraepitelial); en comparación al grupo de pollos que recibieron el 25% (Figura 21 C) no muestra alteraciones clasificándolo en el (Grado 0) es decir sin alteraciones en su mucosa, criptas, con epitelio completo y vellosidades más largas y las criptas más profundas, lo que determina que su mucosa sea más gruesa tal como lo reporta Zanuzzi y Barbeito<sup>(38)</sup>; así como también se encontró alteraciones moderadas (Grado 1); sin embargo en los pollos alimentados con 10% se observó lesiones de mayor extensión, aun identificándose vellosidades (Grado 2) para determinarse la pérdida completa de la arquitectura de las vellosidades intestinales en el grupo del 50% mostrando un(Grado 3).

Figura 21. Microfotografía transversal del Duodeno en Pollos Cobb 500 alimentados con diferentes niveles de Harina de Semilla de Mango (HSM), en el día 42.



S.: Serosa, Ms.L.Ex.: Muscular longitudinal externa, Ms.C.I.: Muscular circular interna, Ms.Mu.: Muscular de la mucosa, Co.: Corion o lamina propia, GL.LB.: Glándulas de Lieberkühn, VLL.: Vellosidades intestinales, CL.Ca.: Células caliciformes, Ds.CL.Ep.: Descamación de células epiteliales. H-E.: 100X; G0= grado 0; G1= grado 1; G2= grado 2; G3= grado 3; A: 0% HSM, B: 10% HSM, C: 25% HSM, D: 50% HSM.

Figura 22. Microfotografía transversal de Yeyuno en Pollos Cobb 500 alimentados con diferentes niveles de Harina de Semilla de Mango (HSM), en el día 7.



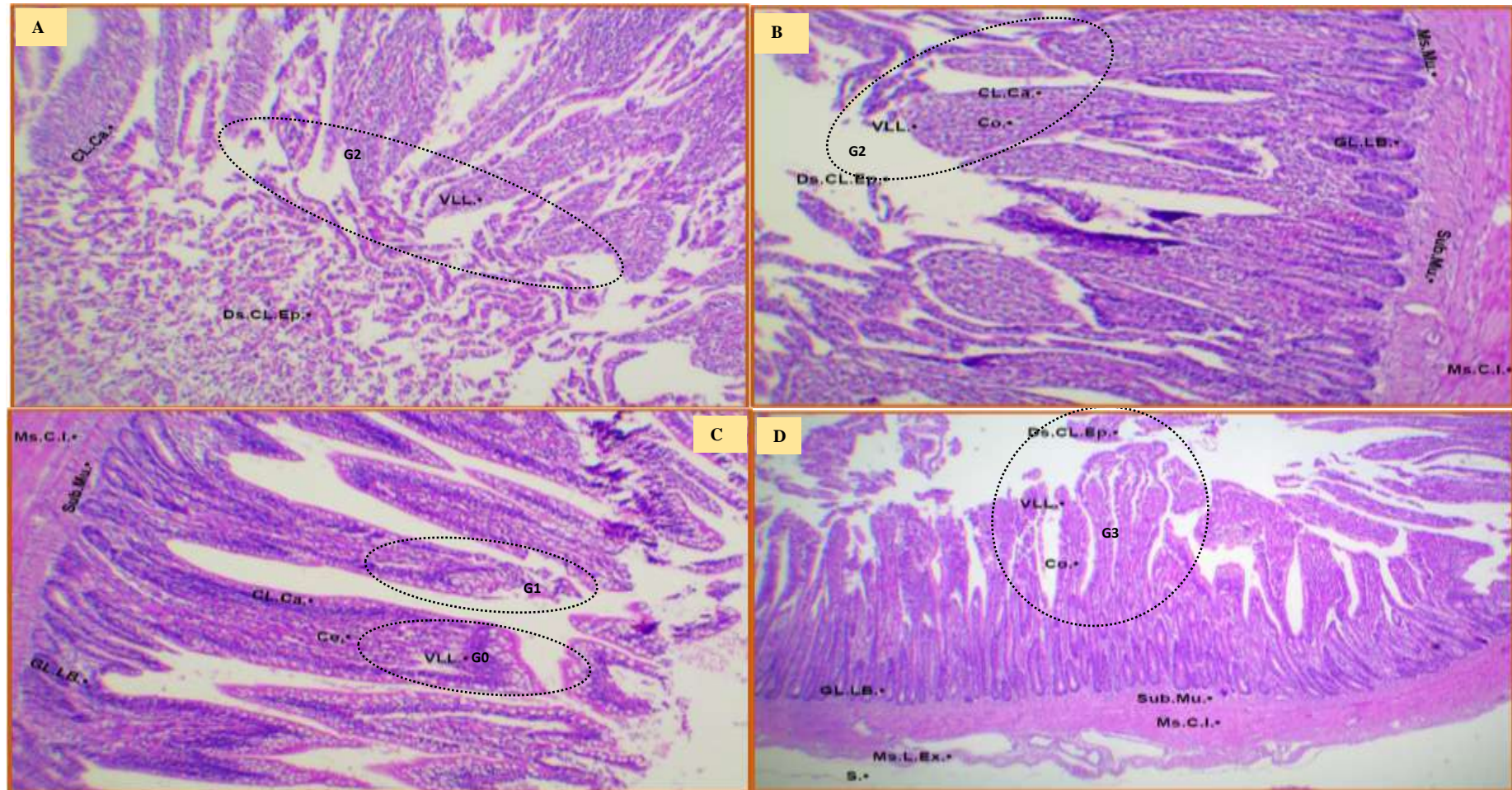
S.: Serosa, V.: Vena, Ar.: Arteria, Ms.L.Ex.: Muscular longitudinal externa, Ms.C.I.: Muscular circular interna, Sub.: Submucosa, Ms.Mu.: Muscular de la mucosa, GL.LB.: Glándulas de Liberkuhn, Co.: Corion o lamina propia, VLL.: Vellosidades intestinales, Ds.CL.Ep.: Descamación de células epiteliales. H-E.: 100X; G0= grado 0; G1= grado 1; G2= grado 2; G3= grado 3; A: 0% HSM, B: 10% HSM, C: 25% HSM, D: 50% HSM.

En las Figuras 22, 23 y 24, se observa microscópicamente el Yeyuno de Pollos Cobb 500 a través de un corte transversal, similar a la del duodeno, encontrando en la túnica mucosa con vellosidades largas y mejores desarrollada especialmente en el grupo alimentados con el 25% HSM, esto es un buen indicador de un buen estado de salud y es avalado por Santin et al.<sup>(39)</sup> en el que sostiene que una mejor condición de salud intestinal conduce a un incremento y desarrollo de las vellosidades intestinales.

Además, en la mucosa se observó una sola capa de fibras musculares lisas longitudinales, provenientes de la muscular de la mucosa, esta es característica tanto del duodeno como el yeyuno tal como lo menciona Delhon et al.<sup>(42)</sup>; con un epitelio de revestimiento cilíndrico simple con chapa estriada, apreciando un aumento de las células caliciformes presentes en el epitelio y una disminución de las criptas intestinales (Figura 22, C), reportado por diferentes investigadores Ferrufino J, Taxa L y Gladis A.<sup>(44)</sup>, así como también estos mismos autores menciona que en la lámina propia se observan nódulos linfáticos y vasos sanguíneos. La submucosa del yeyuno es poco desarrollada a diferencia del duodeno; la túnica muscular es más gruesa que la observada en el segmento anterior (duodeno), y la serosa no presenta ninguna diferenciación con respecto al duodeno.

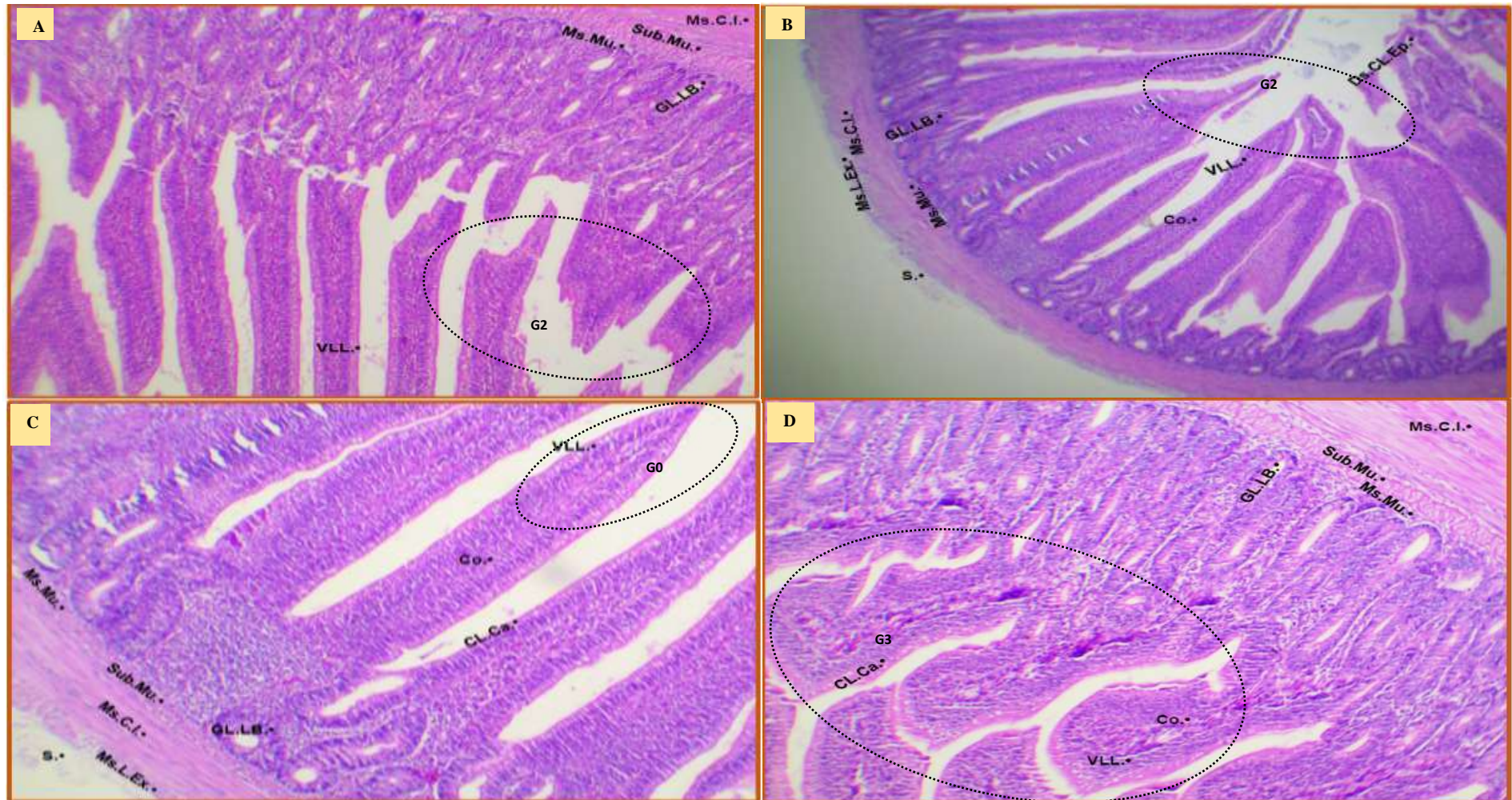
El Yeyuno segundo segmento del intestino delgado, en pollos alimentados con diferentes niveles de HSM, se observó diferenciación morfológica en la túnica mucosa del grupo de pollos que recibieron una dieta comercial (Figura 22 A) libre de probióticos y sin ningún medicamento se presenció que las vellosidades a los 7 días (Figura 22), 22 días (Figura 23) y 42 días (Figura 24) tuvieron una alteración morfológica (Grado 2) en cuanto a su epitelio observándose infiltrado alto ( 7 días, Figura 22 A), moderado (22 y 42 días, Figura 23A y 24A); caso contrario fueron los grupo que recibió el 10% HSM (Figura 22, 23 y 24 B) en la que se observaron alteración leve en las puntas de las vellosidades y poca infiltración linfocitaria a nivel de su epitelio a los 7, 22 y 42 días; y más aún en el grupo que recibió en la dieta el 25% HSM las vellosidades observadas tuvieron un desarrollo morfológico normal (Grado 0) es decir no presentó ninguna alteración microscópica y escaso infiltración linfocitaria observándose en el día 42 a diferencia de los días 7 y 22 mostraron una leve infiltración y poco daño morfológico en las vellosidades, pero al aumentar en la dieta al 50% HSM, se halló destrucción morfológica de las vellosidades intestinales(Grado 3) en los días evaluados (7, 22 y 44 días).

Figura 23. Microfotografía transversal de Yeyuno en Pollos Cobb 500 alimentados con diferentes niveles de Harina de Semilla de Mango (HSM), en el día 22.



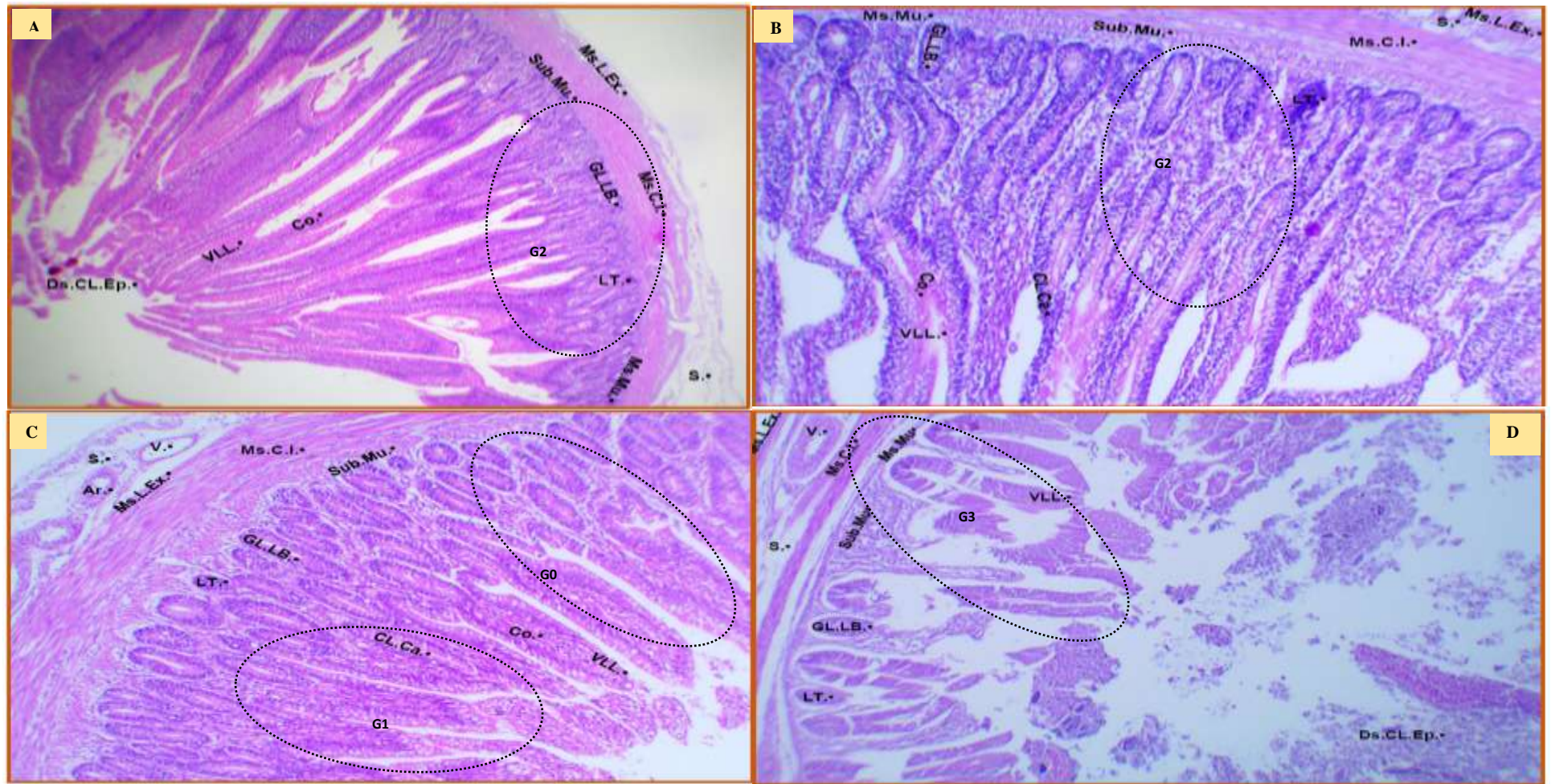
S.: Serosa, V.: Vena, Ar.: Arteria, Ms.L.Ex.: Muscular longitudinal externa, Ms.C.I.: Muscular circular interna, Sub.Mu.: Submucosa, Ms.Mu.: Muscular de la mucosa, Co.: Corion o lamina propia, GL.LB.: Glándulas de Liberkuhn, VLL.: Vellosidades intestinales, Ds.CL.Ep.: Descamación de células epiteliales. H-E.: 40X – 100X; G0= grado 0; G1= grado 1; G2= grado 2; G3= grado 3; A: 0% HSM, B: 10% HSM, C: 25% HSM, D: 50% HSM.

Figura 24. Microfotografía transversal de Yeyuno en Pollos Cobb 500 alimentados con diferentes niveles de Harina de Semilla de Mango (HSM), en el día 42.



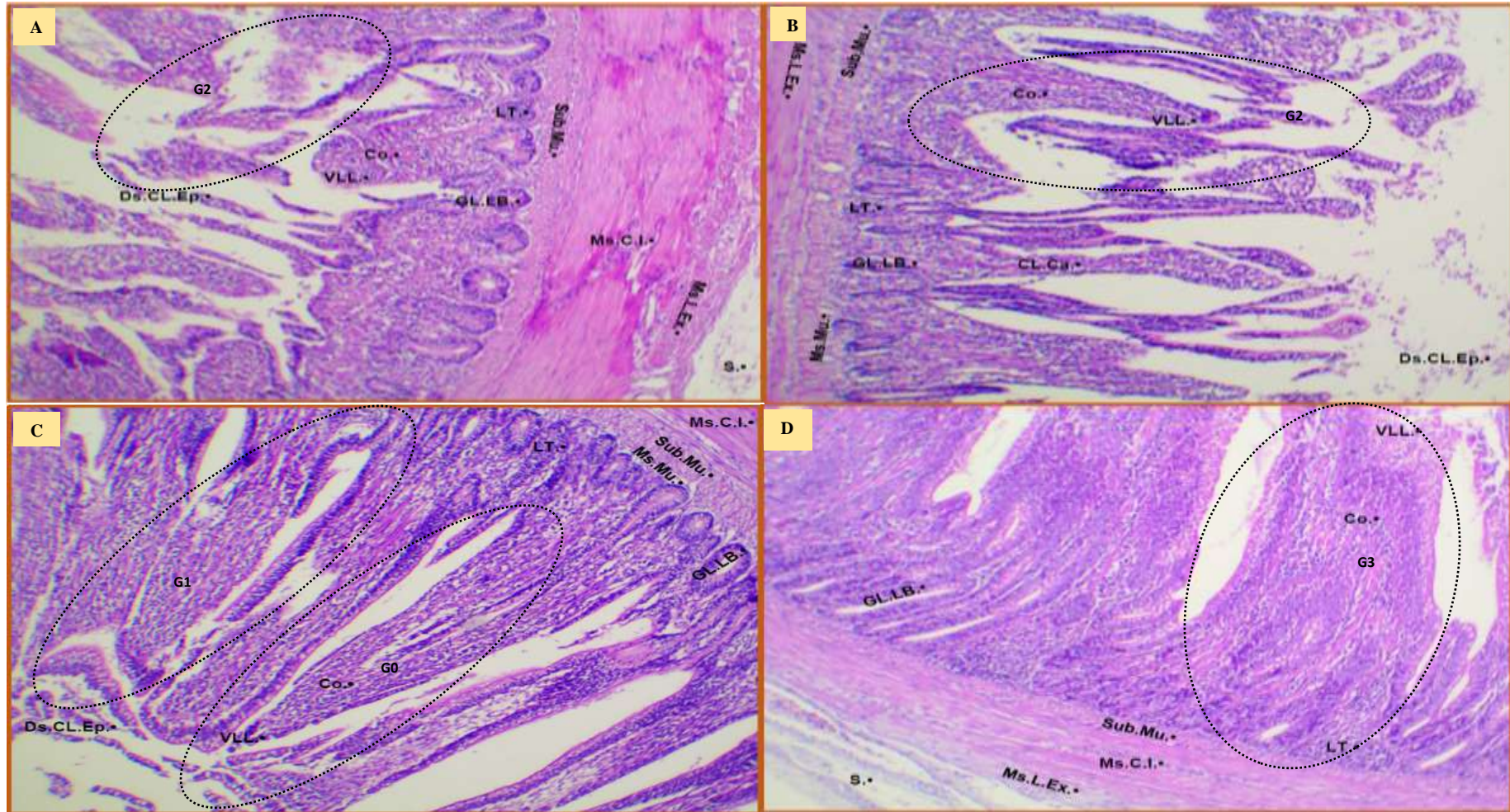
S.: Serosa, Ms.L.Ex.: Muscular longitudinal externa, Ms.C.I.: Muscular circular interna, Sub.Mu.: Submucosa, Ms.Mu.: Muscular de la mucosa, Co.: Corion o lamina propia, GL.LB.: Glándulas de Liberkuhn, VLL.: Vellosidades intestinales, Ds.CL.Ep.: Descamación de células epiteliales. H-E.: 100x; G0= grado 0; G1= grado 1; G2= grado 2; G3= grado 3 A: 0% HSM, B: 10% HSM, C: 25% HSM, D: 50% HSM.

Figura 25. Microfotografía transversal de Íleon en Pollos Cobb 500 alimentados con diferentes niveles de Harina de Semilla de Mango (HSM), en el día 7



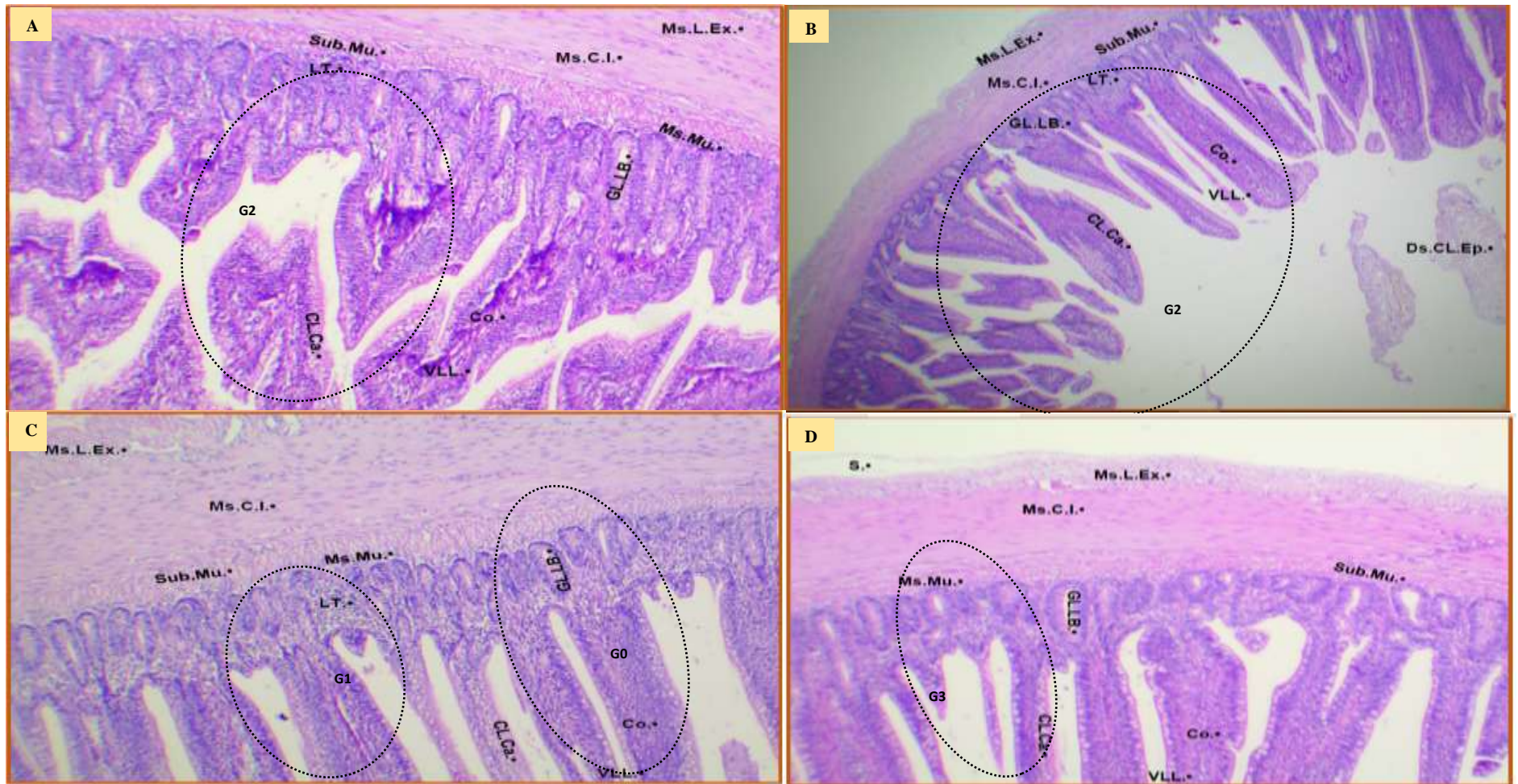
S.: Serosa, V.: Vena, Ar.: Arteria, Ms.L.Ex.: Muscular longitudinal externa, Ms.C.I.: Muscular circular interna, Ms.Mu.: Muscular de la mucosa, Sub.Mu.: Submucosa, Co.: Corion o lamina propia, GL.LB.: Glándulas de Lieberkühn, LT.: Acumulación de Linfocitos T, VLL.: Vellosidades intestinales, Ds.CL.Ep.: Descamación de células epiteliales. H-E.: 40X- 100x; G0= grado 0; G1= grado 1; G2= grado 2; G3= grado 3; A: 0% HSM, B: 10% HSM, C: 25% HSM, D: 50% HSM.

Figura 26. Microfotografía transversal de Íleon en Pollos Cobb 500 alimentados con diferentes niveles de Harina de Semilla de Mango (HSM), en el día 22



S.: Serosa, Ms.L.Ex.: Muscular longitudinal externa, Ms.C.I.: Muscular circular interna, Sub.Mu.: Submucosa, Ms.Mu.: Muscular de la mucosa, Co.: Corion o lamina propia, GL.LB.: Glándulas de Liberkuhn, LT.: Acumulación de Linfocitos T, VLL.: Velloidades intestinales, Ds.CL.Ep.: Descamación de células epiteliales. H-E.: 40X – 100X; G0= grado 0; G1= grado 1; G2= grado 2; G3= grado 3 A: 0% HSM, B: 10% HSM, C: 25% HSM, D: 50% HSM.

Figura 27. Microfotografía transversal de Íleon en Pollos Cobb 500 alimentados con diferentes niveles de Harina de Semilla de Mango (HSM), en el día 42

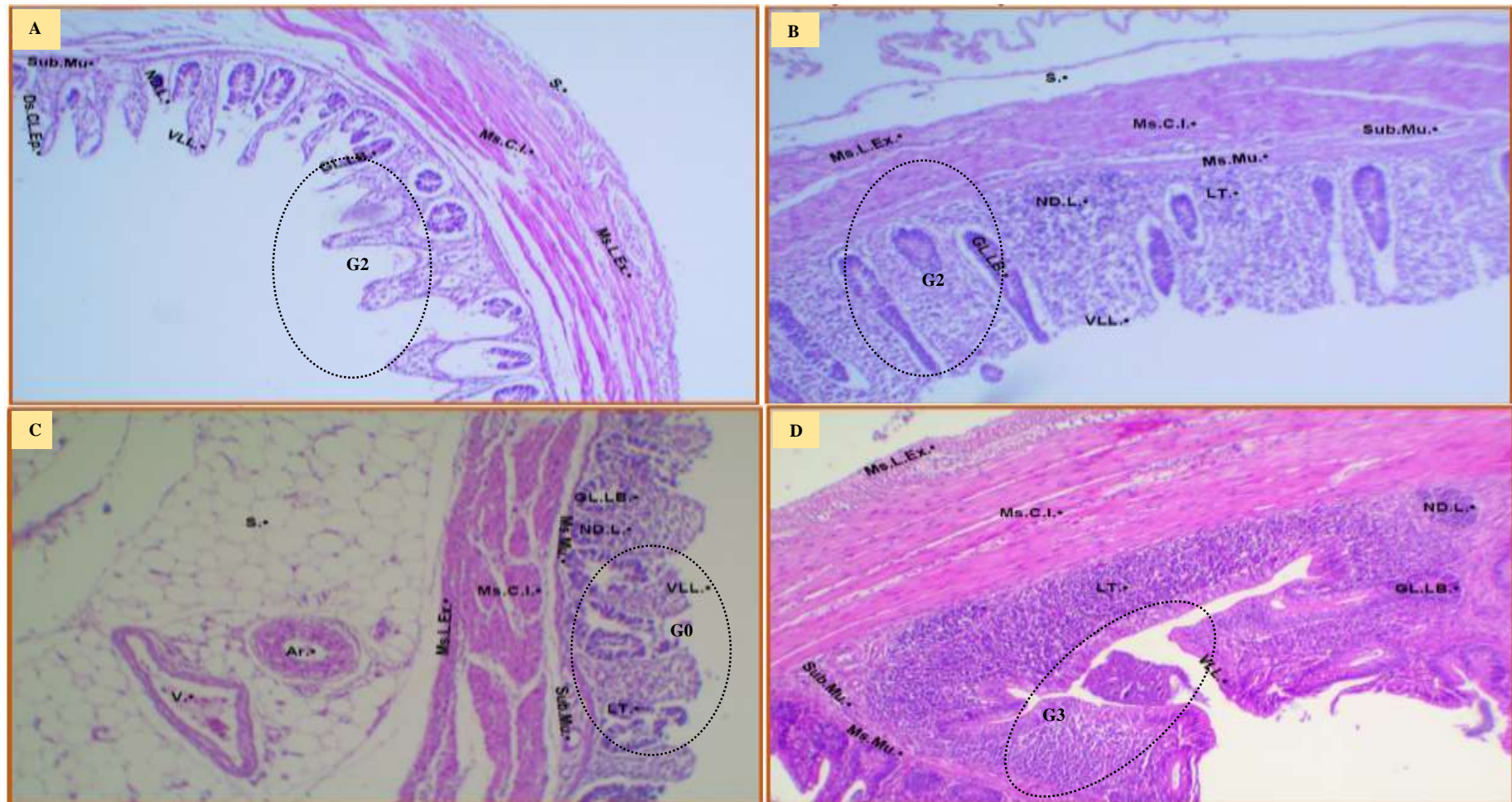


S.: Serosa, Ar.: Arteria, V.: Vena, Ms.L.Ex.: Muscular longitudinal externa, Ms.C.I.: Muscular circular interna, Sub.Mu.: Submucosa, Ms.Mu.: Muscular de la mucosa, Co.: Corion o lamina propia, GL.LB.: Glándulas de Liberkuhn, LT.: Acumulación de Linfocitos T, VLL.: Vellosidades intestinales, Ds.CL.Ep.: Descamación de células epiteliales. H-E.: 40X – 100X; G0= grado 0; G1= grado 1; G2= grado 2; G3= grado 3; A: 0% HSM, B: 10% HSM, C: 25% HSM, D: 50% HSM.

El corte panorámico transversal del ambiente celular del íleon a 40X y 100X con tinción H&E mostrada en la Figura 25, 26 y 27, en pollos Cobb 500 alimentados con diferentes niveles de harina de semilla de mango (HSM), las diferencias microscópicas de la mucosa del íleon presentan menor cantidad de vellosidades, aparentemente cortas y más gruesas a diferencia del duodeno y yeyuno. A nivel de las vellosidades se encuentran células caliciformes en menor cantidad que el yeyuno y numerosas criptas intestinales. En la lámina propia, se observan vasos sanguíneos, determinándose una submucosa (Sub.Mu) poco desarrollada y la muscular mucosae aumenta de espesor coincidiendo con Zanuzzi y Barbeito<sup>(72)</sup>; de igual manera manifiesta que la túnica muscular se dispone en una capa circular interna y otra longitudinal externa, entre ambas se aprecia plexos muscular o de Auerbach, mientras que la túnica serosa no se observa ninguna diferenciación, es decir es similar al duodeno y yeyuno.

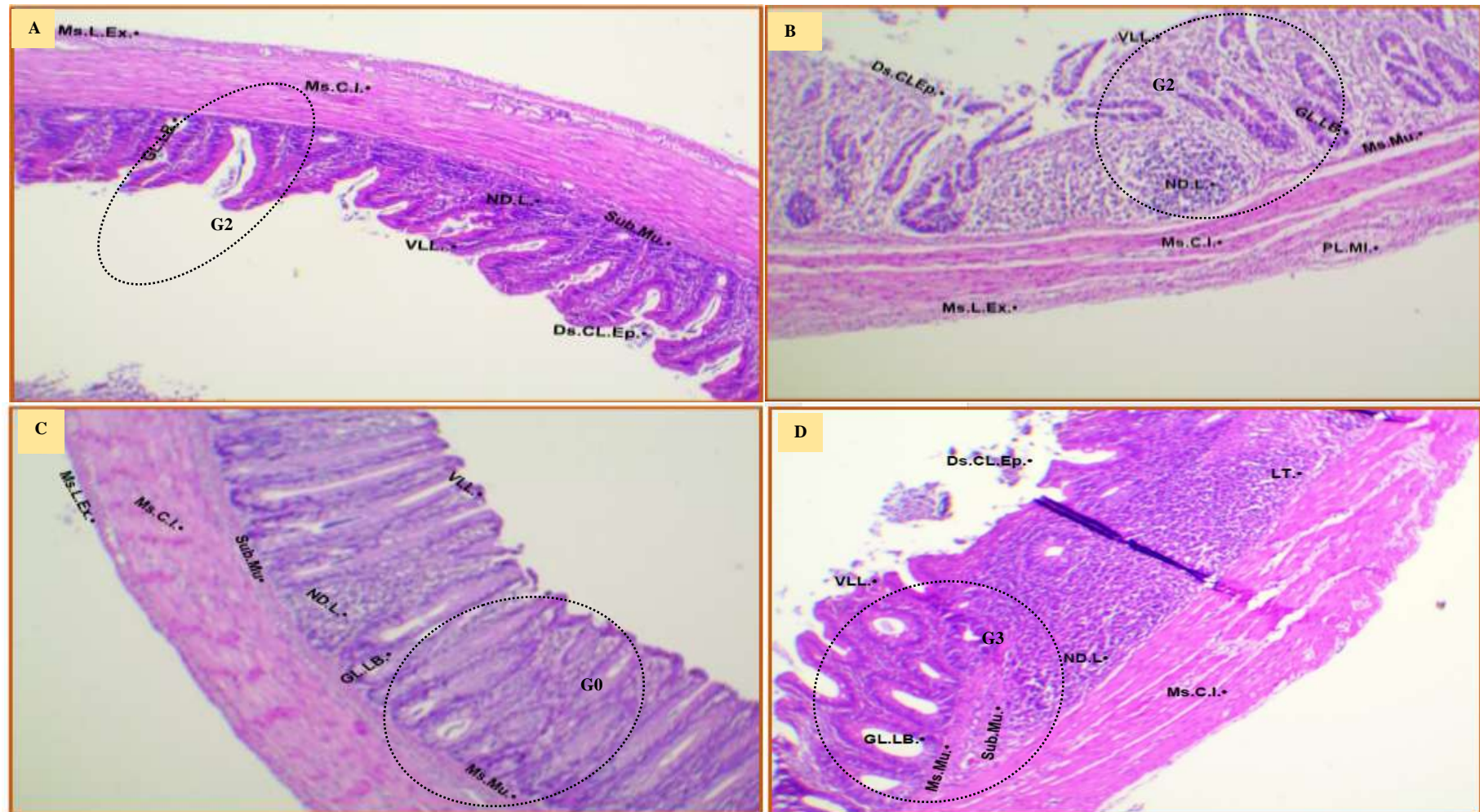
El Íleon, segmento final del intestino delgado, denota una diferenciación morfológica de la túnica mucosa del grupo de pollos que recibieron una dieta libre de probióticos y sin ningún medicamento; se apreció que las vellosidades a los 7 días (Figura 25A), 22 días (Figura 26A) y 42 días (Figura 27A) tuvieron una alteración morfológica (Grado 2) con una alta infiltración linfocitaria en su epitelio a los 7 días, (Figura 25 A1 – A2) y moderado a los 22 y 42 días, (Figura 26 y 27 A1 – A2, respectivamente); caso contrario fueron los grupo que recibió el 10% HSM en la que se observaron alteración marcada en las puntas de las vellosidades y moderada infiltración linfocitaria (Grado 2) a nivel de su epitelio a los 7, 22 y 42 días (Figura 25 a 27 B); y más aún en el grupo que recibió HSM al 25% en la dieta (Figura 25 C2) las vellosidades observadas tuvieron un desarrollo morfológico normal (Grado 0) es decir no presentó ninguna alteración microscópica y escasa infiltración linfocitaria observándose en el día 7 a diferencia de los días 22 y 42 que mostraron una leve infiltración y poco daño morfológico en las vellosidades (Grado 1), pero al aumentar en la dieta al 50% HSM, se determina destrucción morfológica de las vellosidades intestinales(Grado 3) en los días evaluados (Figura 25 a 27 D).

Figura 28. Microfotografía transversal de Ciegos en Pollos Cobb 500 alimentados con diferentes niveles de Harina de Semilla de Mango (HSM), en el día 7.



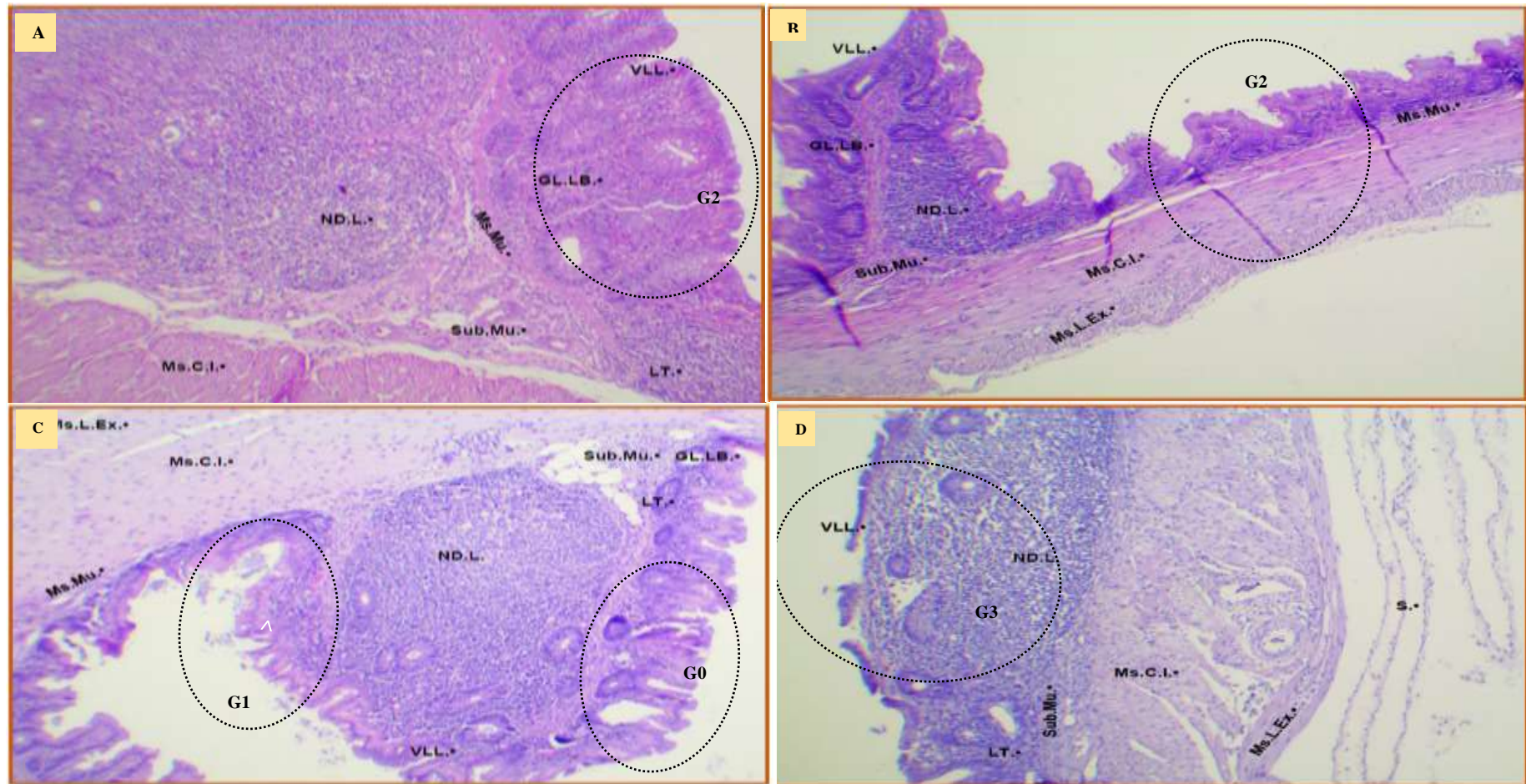
S.: Serosa, Ar.: Arteria, V.: Vena, Ms.L.Ex.: Muscular longitudinal externa, Ms.C.I.: Muscular circular interna, Sub.Mu.: Submucosa, Ms.Mu.: Muscular de la mucosa, GL.LB.: Glándulas de Liberkuhn, LT.: Acumulación de Linfocitos T, ND.L.: Nódulo linfático, VLL.: Vellosidades, Ds.CL.Ep.: Descamación de células epiteliales. H-E.: 100X; G0= grado 0; G1= grado 1; G2= grado 2; G3= grado 3; A: 0% HSM, B: 10% HSM, C: 25% HSM, D: 50% HSM.

Figura 29. Microfotografía transversal de Ciegos en Pollos Cobb 500 alimentados con diferentes niveles de Harina de Semilla de Mango (HSM), en el día 22.



S.: Serosa, Ms.L.Ex.: Muscular longitudinal externa, Ms.C.I.: Muscular circular interna, Sub.Mu.: Submucosa, Ms.Mu.: Muscular de mucosa, PL.MI.: Plexo mientérico, GL.LB.: Glándulas de Liberkuhn, LT.: Acumulación de Linfocitos T, ND.L.: Nódulo linfático, VLL.: Vellosoidades, Ds.CL.Ep.: Descamación de células epiteliales H-E.: 100X; G0= grado 0; G1= grado 1; G2= grado 2; G3= grado 3, A: 0% HSM, B: 10% HSM, C: 25% HSM, D: 50% HSM.

Figura 30. Microfotografía transversal de Ciegos en Pollos Cobb 500 alimentados con diferentes niveles de Harina de Semilla de Mango (HSM), en el día 42.



S.: Serosa, Ms.L.Ex.: Muscular longitudinal externa, Ms.C.I.: Muscular circular interna, Sub.Mu.: Submucosa, Ms.Mu.: Muscular de mucosa, GL.LB.: Glándulas de Liberkuhn, LT.: Acumulación de Linfocitos T, ND.T.: Nódulo linfático, VLL.: Vellosidades, Ds.CL.Ep.: Descamación de células epiteliales H-E.: 40X – 100X; G0= grado 0; G1= grado 1; G2= grado 2; G3= grado 3; A: 0% HSM, B: 10% HSM, C: 25% HSM, D: 50% HSM.

Al realizar un corte transversal del Ciego de pollos Cobb 500 alimentados con diferentes niveles de harina de semilla de mango (HSM) se observa el ecosistema del ciego a 40X y 100X, vista panorámica con tinción H&E mostrada en la Figura 28, 29 y 30, se observa en la mucosa pocas vellosidades intestinales, pero denotas numerosas criptas intestinales que en el intestino delgado avalado por Kadhim et al.<sup>(31)</sup> también se muestra células caliciformes que aportan mucus por exocitosis, lubricando y protegiendo la mucosa intestinal; además en la mucosa también se aprecia nódulos linfáticos aislados. La submucosa es delgada y presenta gran cantidad de tejido adiposo con respecto al duodeno yeyuno e íleon. La túnica muscular presenta menor desarrollo que en el intestino delgado, está formada por una delgada capa circular interna y longitudinal externa. En ellas, se observan plexos nerviosos mientéricos (Figura 29-B2). La serosa no presenta ninguna diferenciación celular con respecto a la del intestino delgado.

El ciego segmento que pertenece al intestino grueso, en el grupo control, se observó que las a los 7 días (Figura 28A), 22 días (Figura 29A) y 42 días (Figura 30A) vellosidades con alteración morfológica pero aún identificable (Grado 2) en cuanto a su epitelio se aprecia infiltración moderada ( 7 días, Figura 28 A1 – A2) y alta (22 y 42 días, Figura 29 y 30 A1 – A2); caso contrario fueron los grupo que recibió el 10% HSM en la que se observaron alteración moderada en las puntas de las vellosidades y poca infiltración linfocitaria (Grado 1) a nivel de su epitelio a los 7, 22 y 42 (Figura 28 a 30 B) días; y más aún en el grupo que recibió en la dieta el 25% HSM las vellosidades observadas tuvieron un desarrollo morfológico normal (Grado 0) es decir no presentó ninguna alteración microscópica y escaso a moderada infiltración linfocitaria y poco daño morfológico en las vellosidades (Grado 1), pero al aumentar en la dieta al 50% HSM, se halló destrucción morfológica de las vellosidades intestinales (Grado 3) en los días evaluados (Figura 28 a 30 D).

## **V. CONCLUSIONES**

1. En el duodeno de los pollos alimentados con el 25% de semilla de harina de Mango tuvo mejor efecto, no observándose alteraciones en su mucosa, criptas y vellosidades clasificándolo en el (Grado 0) es decir sin alteraciones, con epitelio completo en los días 7, 22 y en el 42 día observándose mejor arquitectura y disposición de las vellosidades dispuestas en zig-zag característica en buen estado de salud; sin embargo en los pollos alimentados con 10% se observó lesiones de mayor extensión, aun identificándose vellosidades (Grado 2) para luego apreciar perdida completa de la arquitectura de las vellosidades intestinales en el grupo del 50%.
2. La porción intestinal yeyuno de pollos alimentados con el 25% HSM tuvo una mejor constitución de las vellosidades como un buen desarrollo y crecimiento morfológico normal (Grado 0) es decir no presentó ninguna alteración microscópica y escaso infiltración linfocitaria observándose en el día 42 a diferencia de los días 7 y 22 mostraron una leve infiltración y poco daño morfológico en las vellosidades (Grado 1), pero al emplear el 50% HSM en la dieta, hubo destrucción morfológica de las vellosidades intestinales(Grado 3) en los días evaluados.

3. El Íleon segmento final del intestino delgado de los pollos Cobb 500 alimentados con el 25% de HSM se observó en buen estado de salud las vellosidades presentando un desarrollo morfológico normal (Grado 0) y en cuanto a la infiltración linfocitaria fue moderada (Grado 1) observándose en el día 7 a diferencia de los días 22 y 42 mostraron una leve infiltración , en comparación al grupo que no consumieron HSM las vellosidades a los 7, 22 y 42 días tuvieron una alteración morfológica (Grado 2) en cuanto a su epitelio se apreció infiltrado alto (7 días) y moderado (22 días); mientras que el grupo con el 10% HSM se observó alteración marcada solo en las puntas de las vellosidades y moderada infiltración linfocitaria (Grado 2), pero al aumentar en la dieta al 50% HSM, se encontró destrucción morfológica de las vellosidades intestinales (Grado 3) en los días evaluados.
  
4. A nivel de los ciegos (intestino grueso) las aves que consumieron el 25% de HSM se observó un efecto beneficioso a nivel de la mucosa observando un desarrollo morfológico normal de las vellosidades (Grado 0) con infiltración linfocitaria de escaso a moderada (Grado 1), mientras que el grupo control, tuvieron la vellosidades con alteración morfológica pero aún identificable (Grado 2) en cuanto a su epitelio se aprecia infiltrado moderado ( 7 días) y alto (22 y 42 días); caso contrario fueron los grupo que recibió el 10% HSM que presentó alteración moderada en las puntas de las vellosidades y poca infiltración linfocitaria (Grado 1); y notándose una diferencia marcada en el los pollos con el 50% HSM, hallándose destrucción morfológica de las vellosidades intestinales (Grado 3) en los días evaluados.

## **VI. RECOMENDACIONES**

1. Incluir en la alimentación de pollos de engorde el 25% de Harina de Semilla de Mango (HSM) desde la etapa de inicio debido a que favorece el desarrollo y crecimiento de las vellosidades, siendo estas un indicativo del estado de salud a nivel intestinal.
2. Realizar otras investigaciones utilizando en forma conjunta la HSM con otras fuentes naturales con la adición de otros insumos naturales para realizar una comparación en cuanto a la productividad y medición de las vellosidades.

## VII. LISTA DE REFERENCIA

1. Stanley D, Geier MS, Hughes RJ, Denman SE, Moore RJ. Highly variable microbiota development in the chicken gastrointestinal tract. *PLoS One*. 2013;8(12):6–12.
2. Agostinho TSP, Calixto LFL, Gomes AV da C, Togashi CK, Curvello FA, de Lima MF. Desenvolvimento de órgãos do trato gastrintestinal e desempenho de frangos de corte arraçoados na fase pré-alojamento. *Rev Bras Saude e Prod Anim*. 2012;13(4):1143–55.
3. Álvarez A. Fisiología comparada de los animales domésticos. Primera ed. La Habana: Universidad Nacional Agraria de la Habana; 2002. 234-250 p.
4. Trautman D, Febiger JT. Histología y anatomía microscópica de los animales domésticos. Primera ed. Valencia; 1970. 225-241 p.
5. Gilbert L. The consumer market for functional foods. *J Nutraceuticals, Funct Med Foods* [Internet]. 1997;1(3):5–21. Available from: <http://www.scopus.com/inward/record.url?eid=2-s2.0-0031430271&partnerID=40&md5=310b6d674ef0e84e21713d0cc1c07926>
6. Londoño J, Rodrigues de Lima V, Lara O, Gil A, Crecsynski TB, Arango GJ, et al. Clean recovery of antioxidant flavonoids from citrus peel: Optimizing an aqueous ultrasound-assisted extraction method. *Food Chem* [Internet]. 2010;119(1):81–7. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.05.075>
7. Puravankara D, Boghra V, Sharma RS. Effect of antioxidant principles isolated from mango (*Mangifera indica* L) seed kernels on oxidative stability of buffalo ghee (butter-fat). *J Sci Food Agric*. 2000;80(4):522–6.
8. Kabuki T. Characterization of novel antimicrobial compounds from mango (*Mangifera indica* L.) kernel seeds. *Food Chem*. 2000;71(1):61–6.
9. Larrauri JA, Rupérez P, Borroto B, Saura-Calixto F. Mango Peels as a New Tropical Fibre: Preparation and Characterization. *Leb Wiss Technol - Food Sci Technol*. 1996;29(8):729–33.
10. Yamasaki M, Murakami H, Nakashima K, Abe H, Takemasa M. Effects of excess essential amino acids in low protein diet on abdominal fat deposition and nitrogen excretion of the broiler chicks. *Poult Sci*. 2006;43:150–5.
11. Nitsan Z, Ben-Avrahm G, Zoref Z, Nir I. Growth and development of the digestives organs and some enzymes in broiler chicks after hatching. *Poult Sci*. 1991;41:17–23.
12. Cuervo M, Gómez C, Romero H. Efecto de la utilización de un suplemento nutricional hidratado en pollos de engorde recién nacidos. *Rev Colomb Ciencias Pecu*. 2002;15(3):319–29.
13. Ravindran V, Sivakanesan R. The nutritive value of mango seed kernels for starting

- chicks. *J Sci food Agric*. 1996;71(2):245–50.
14. Moreno MJ. Evaluación fisicoquímica de una harina integral proveniente de semillas de mango (*Mangifera indica* L. Var. Bocado). *Ciencoas Básicas Y Tecnológicas*. 1999;11(2):25–7.
  15. Betancourt L, Ariza CJ, Afanador G. Effects of supplementation with oregano essential oil on ileal digestibility, intestinal histomorphology, and performance of broiler chickens. *Rev Colom Cienc Pecu*. 2012;(25):240–51.
  16. Shiva C, Bernal S, Sauvain M, Caldas J, Kalinowski J, Falcón N, et al. Evaluación del aceite esencial de orégano (*Origanum vulgare*) y extracto deshidratado de jengibre (*Zingiber officinale*) como potenciales promotores de crecimiento en pollos de engorde. *Rev Investig Vet del Peru*. 2012;23(2):160–70.
  17. Gutiérrez C. Determinación de los parametros morfométricos del duodeno de pollos de engorde después de la administración de una mezcla de probióticos. Universidad de la Salle; 2014.
  18. Diarra S., Saleh B, Kwari ID, Igwebuike J. Evaluation of boiled mango kernel meal as energy source by broiler chickens in the semi-arid zone of Nigeria. *Int J Sci Nat*. 2011;2(2):270–4.
  19. Amao EA, Siyanbola MF. Carcass and physiological response of broilers fed dry heat treated mango (*Mangifera indica*) kernel based diet. *Glob J Poult Farming Vaccin* [Internet]. 2013;1:59–63. Available from: <http://academicjournals.org/journal/IJLP/article-abstract/05DCDD61794>
  20. Sisson S, Grossman J. *Anatomía de los Animales Domésticos*. 5th Edicio. Mallorca-España: Salvat; 1985. 2035-2055 p.
  21. Cunningham JG. *Fisiología Veterinaria*. 3th edicio. Madrid - España: Elsevier; 2003. 276-278. p.
  22. Banks WJ. *Histología Veterinaria Aplicada*. Mexico D.F.: Manual Moderno.; 1996. 499-510. p.
  23. Dallmann HD. *Histología Veterinaria*. 2th edicio. Zaragoza (España): Acribia, S.A.; 1993. 219-221. p.
  24. Ross HM, Romrell JL, Kaye IG. *Histología texto y Atlas color*. 3th edicio. Mexico D.F.: Editorial Medica Panamericana; 1999.
  25. Téllez G, Nava G, Vicente JL, Higgins SE, Bielke L, Donoghue AMM, et al. Biología funcional de las células caliciformes, su papel en el mantenimiento de la integridad intestinal y la resistencia a patógenos. In: *Memorias del 1er Simposium Internacional de Integridad Intestinal Avícola*. 2003.
  26. Geneser-Finn. *Histologia*. 2th edicio. Buenos Aires: Medica Panamerciana S.A.; 1993. 380 p.
  27. Wells JM, Melton DA. Vertebrate endoderm development. *Annu Rev Cell Dev Biol*. 1999;15:393–410.
  28. Gázquez A, Blanco A. *Tratado de Histología Veterinaria* [Internet]. Priera edi. Masson D., editor. Barcelona-España: Dialnet; 2004. Available from: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/libro?codigo=489955>

29. Dibner JJ, Richards JD. The Digestive System: Challenges and Opportunities. Missouri USA: St. Charles; 2004.
30. Denbow M. Gastrointestinal Anatomy and Physiology. In: Sturkie's Avian Physiology. Quinta ed. Blacksburg, Virginia; 2000.
31. Kadhim KK, Zuki ABZ, Noordin MM, Babjee SMA. Histomorphometric evaluation of small intestinal mucosa of red jungle fowl and commercial broiler from one day to four months of age. *Afr J Biotechnol.* 2012;11(7):1806–11.
32. Hall JE. Guyton y Hall. Tratado de fisiología médica. 13 th Edic. Barcelon - España: Elsevier España, S.L.U.; 2016.
33. Choque JA. Evaluación del estado oxidativo y salud intestinal de pollos de carne en respuesta a la alimentación con grasas recicladas. Tesis Doctoral. Universidad autónoma de Barcelona; 2008.
34. Van, Leeuwen P, Mouwen JMVM, Van Der Klis JD, Verstegen MWA. Morphology of the small intestinal mucosal surface of broiler in relation to age, diet formulation, small intestinal microflora and performance. *Brazilian J Poult Sci.* 2004;45:41–8.
35. Uni Z, Geyra A, Ben-Hur H, Sklan D. Small intestinal development in the young chick : Crypt formation and enterocyte proliferation and migration Small intestinal development in the young chick : crypt formation and enterocyte proliferation and migration. *Br Poult Sci.* 2000;41(5):544–51.
36. Arce MJ, Ávila GE, López CC, García EA, García GF. Efecto de paredes celulares (*Saccharomyces cerevisiae*) en el alimento de pollo de engorda sobre los parámetros productivos. *Téc Pecu Méx.* 2005;43:155–62.
37. Hooge DM, Sims MD, Sefton AE, Connolly A, Spring PS. Effect of dietary mannan oligosaccharide, with or without bacitracin or virginiamycin, on live performance of broiler chickens at relatively high stocking density on new litter. *J Appl Poult Res.* 2003;12:461–7.
38. Hoffmann G, Volver H. Anatomía y fisiología de las aves domésticas. Zaragoza (España): Ed. Acribia, S.A.; 1969.
39. Santin E, Paulillo AC, Maiorka A, Nakaghi LSO, Macari M, Fischer da Silva AV, et al. Evaluation of the efficacy of *Saccharomyces cerevisiae* cell wall to ameliorate the toxic effects of aflatoxin in broilers. *Int J Poult Sci.* 2003;2(5):341–4.
40. González JM, Jiménez E, Lázaro R, Mateos GG. Effect of type of cereal, heat processing of the cereal, and inclusion of fiber in the diet on productive performance and digestive traits of broilers. *Poult Sci.* 2007;86(8):1705–15.
41. Zanuzzi C, Barbeito C. Sistema digestivo. In: González N, Barbeito CG, editors. *Histología de las aves*. Primera ed. La Plata - Argentina: Universidad Nacional de la Plata; 2014. p. 197.
42. Delhon GA, Fernández-Surribas J, Gagna G, Lacolla D, Von Lawzewitsch I. Aparato digestivo de las aves domésticas. In: *Lecciones de histología veterinaria*. Buenos Aires: Hemisferio Sur; 1984. p. 45–111.
43. Alan D y K. Histología del intestino delgado y grueso [Internet]. Blogspot104. 2017 [cited 2019 Jun 16]. Available from:

<https://histology104.blogspot.com/2017/05/histologia-del-intestino-delgado-y.html?showComment=1560697924597#c7534784879221596266>

44. Ferrufino J, Taxa L, Gladis A. Histología normal del intestino delgado. Rev Med Hered [Internet]. 1996;7:46–57. Available from: <http://www.scielo.org.pe/pdf/rmh/v7n1/v7n1tr2.pdf>
45. Illanes J., Fertilio B, Chamblas M., Leyton V&, Verdugo F. Descripción Histológica de los Diferentes Segmentos del Aparato Digestivo de Avestruz ( *Struthio camelus* var . *domesticus* ). Int J Morphol. 2006;24(2):205–14.
46. Dieter H, Eurell J. Textbook of Veterinary histology. Quinta edi. Williams, Wilkins, editors. Philadelphia: Lippincot; 1998.
47. Diarra SS. Potential of mango (*Mangifera indica* L.) seed kernel as a feed ingredient for poultry: a review. Worlds Poult Sci J [Internet]. 2014;70(2):279–88. Available from: [http://www.journals.cambridge.org/abstract\\_S0043933914000294](http://www.journals.cambridge.org/abstract_S0043933914000294)
48. Sandhu KS, Lim ST. Structural characteristics and in vitro digestibility of mango kernel starches (*Mangifera indica* L.). Food Chem. 2007;107:92–7.
49. Fowomola MA. some nutrients and antinutrients contents of mango (*Mangifera indica*) seed. African J Food Sci. 2010;4(8):472–6.
50. Odunsi AA. Response of laying hens and growing broilers to the dietary inclusion of mango (*Mangifera indica* L.) seed kernel meal. Trop Anim Health Prod. 2005;37(2):139–50.
51. Dakare M, Ameh D, Agbaji A, Atawodi S. Effects of Processing Techniques on the Nutritional and Antinutritional Contents of Mango (*Mangifera indica*) Seed Kernel. World J Young Res. 2012;2(3):78–82.
52. Kittiphoom S. Utilisation of mango seed. Int Food Res J. 2012;19(4):1325–35.
53. Jadhav NV, Siddiqui MF. Handbook of poultry production and management. 2 th Edici. Jaypee B, editor. New Delhi - India: Medical Publishers; 2010. 383 p.
54. Damron WS. Introduction to Animal Science. In: Global, Biological, Social, and Industry Perspectives,. 4th Edicio. New Jersey: Pearson Education Limited; 2009. p. 841.
55. Saadany RMA, Roda YH, Saadany FM. Studies on starch extraction from mango seed (*Mangifera indica*) as a new source of starch. Starch/Starke. 1980;32:113–6.
56. Ravindran V, Rajaguru ASB. Nutrient contents of some unconventional poultry feed. Indian. J Anim Sci. 1985;55:58–61.
57. NRC. Nutrients Requeriments of poultry. In: National Research Council. Whashington D.C: National Academic Press; 1994. p. 27.
58. Gunstone FD. Minor specialty oils. In: Shahidi F, editor. Nutraceutical and specialty lipids and their co-products. 2006. p. 91–126.
59. El Boushy AR., Van Der Poel AFB. Handbook of poultry feed from waste: processing and use. New York: Springer - Verlag Berlin Heidelberg; 2000. 428 p.
60. Patil SN, Netke SP, Dabadghao AK. Processing and feeding value of mango seed

- kernel for starting chicks. *Br Poult Sci*. 1982;23(3):185–90.
61. Tegua A. Substituting ground mango kernels (*Mangifera indica* L) for maize in broiler starter diets. *Anim Feed Sci Technol*. 1995;56(1-2):155–8.
  62. Joseph JK, Abolaji J. Effects of replacing maize with graded levels of cooked Nigerian mango-seed kernels (*Mangifera indica*) on the performance, carcass yield and meat quality of broiler chickens. *Bioresour Technol*. 1997;61:99–102.
  63. Arogba SS. Mango (*Mangifera indica*) kernel: chromatographic analysis of the tannin, and stability study of the associated polyphenol oxidative activity. *J Food Compos Anal*. 2000;12(2):149–56.
  64. Diarra SS, Usman BA. Growth performance and some blood variables of broiler chickens fed raw or boiled mango kernel meal. *Int J Poult Sci*. 2008;7(4):315–8.
  65. Cervantes M. Coordenadas geográficas de Tucumé, Perú [Internet]. Dateandtime.info. Dateandtime.info; 2017 [cited 2017 Nov 20]. Available from: <http://dateandtime.info/es/citycoordinates.php?id=3691161>
  66. Climate-Data.org. Clima Tucumé [Internet]. 2017 [cited 2017 Nov 20]. Available from: <https://es.climate-data.org/location/49804/>
  67. Googlemaps. Mapa satelital del distrito de Tucumé [Internet]. 2019 [cited 2019 Apr 12]. Available from: <https://www.google.com.pe/maps/place/Tucumé+Viejo,+Tucumé+14120/@-6.5127094,-79.8444971,2969m/data=!3m1!1e3!4m5!3m4!1s0x904c90c463047493:0x8943f2f644b5eee8!8m2!3d-6.5055035!4d-79.8456987>
  68. Venzano AJ. Necropsia En Aves [Internet]. El Salvador; 2003 [cited 2017 Dec 21]. p. 4. Available from: <http://ocw.um.es/cc.-de-la-salud/anatomia-patologica-especial-1/practicas-1/guia-necropsia-aves.pdf>
  69. Montalvo CE. Técnica histológica [Internet]. Facultad de medicina UNAM. 2010 [cited 2019 Jun 16]. p. 1–12. Available from: [https://s3.amazonaws.com/academia.edu.documents/38571773/3\\_tecnica\\_histologica.pdf?AWSAccessKeyId=AKIAIWOWYYGZ2Y53UL3A&Expires=1543091917&Signature=pG2pRJ0y4Ddlr0l82DrUece4zw%3D&response-content-disposition=inline%3Bfilename%3DTECNICA\\_HISTOLOGICA\\_CESAR\\_](https://s3.amazonaws.com/academia.edu.documents/38571773/3_tecnica_histologica.pdf?AWSAccessKeyId=AKIAIWOWYYGZ2Y53UL3A&Expires=1543091917&Signature=pG2pRJ0y4Ddlr0l82DrUece4zw%3D&response-content-disposition=inline%3Bfilename%3DTECNICA_HISTOLOGICA_CESAR_)
  70. Herrera JM, Huberman Y, Felipe A. Evaluación de la protección conferida por *Lactobacillus reuteri* como probiótico en pollos mediante histomorfometría intestinal. Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires; 2018.
  71. Kierszenbaum AL. Segmento Digestivo Inferior. In: *Histología y Biología Celular : Introducción a la anatomía patológica*. Elsevier Mosby; 2008. p. 459–75.
  72. Zanuzzi C, Barbeito C. Sistema Digestivo. In: González N, Barbeito C, editors. *Histología de las Aves*. La Plata - Argentina: Editorial de la Universidad Nacional de La Plata (EDULP); 2014. p. 155–203.
  73. Kuru N. Macroanatomic investigations on the course and distribution of the celiac artery in domestic fowl (*Gallus gallus domesticus*). *Sci Res Essays*. 2010;5(23):3585–91.

74. Rezk HM, El-Bably SH. Gross Anatomical Studies on the Celiac Artery in The Domestic Fowl (*Gallus gallus domesticus*). *J Vet Anat.* 2014;7(1):127–41.
75. Calhoun ML. *Microscopic Anatomy of the Digestive System of the Chicken*. Iowa State College Press. Ames, USA: Iowa State College Press; 1954.
76. Aitken R. A Histochemical Study of the Stomach and Intestine of the Chicken. *J Anat.* 1958;92(3):453–66.
77. Frappier BL. Digestive System. In: *Dellmann's Textbook of Veterinary Histology*. 6th ed. Ames, USA: Blackwell Publishing; 2006. p. 170–211.
78. Claver JA. Aparato digestivo de las aves. In: *Áres Histología y Embriología*. Buenos Aires, Argentina: Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad de Buenos Aires.; 2014.
79. Whittow G. *Sturkie's Avian Physiology* [Internet]. Quinta edi. Academic Press an imprint of Elsevier Inc.; 2000. 704 p. Available from: <https://www.elsevier.com/books/sturkies-avian-physiology/whittow/978-0-12-747605-6>.

## VIII. ANEXOS

### Anexo 01: Limpieza y desinfección del galpón



**Anexo 02: cocción, secado y molienda de semilla de mango.**



### Anexo 03: Preparación de la ración.



#### Anexo 04: Crianza de pollos cobb 500



## Anexo 05: Sacrificio de pollos y obtención de muestras

