

## Fibra de agave como prebiótico sobre variables hematológicas en pollos de engorda

Agave fiber as a prebiotic on hematological variables in broiler chickens

Fernando Villanueva-Rodríguez<sup>1</sup>, Laura A. Hernández-Barrón<sup>1</sup>, Diana V. Hernández-Barrón<sup>1</sup>, Tavita Caudillo-Díaz<sup>1</sup>, María D.S.C Arteaga-Domínguez<sup>1</sup>, Elizabeth Pérez-Escalón<sup>1</sup>, Sarah A. Reyes-Gutiérrez<sup>2</sup>, Diana A. Gutiérrez-Arenas<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Universidad de Guanajuato, Campus Irapuato-Salamanca, División de Ciencias de la Vida, Programa Educativo de Medicina Veterinaria y Zootecnia, México. <sup>2</sup>Universidad de Guanajuato, Campus Guanajuato, División de Arquitectura, Arte y Diseño, Programa Educativo en Diseño Gráfico. [diana.gutierrez@ugto.mx](mailto:diana.gutierrez@ugto.mx)<sup>1\*</sup>

### Resumen

Se ha demostrado que el uso de prebióticos en la dieta de aves de corral mejora la función digestiva del tracto gastrointestinal y tiene un impacto positivo en el rendimiento animal. En busca de alternativas a los antibióticos y aditivos sintéticos en la alimentación avícola, se ha considerado el bagazo de agave, un residuo que queda después de extraer azúcares fermentables para la producción de mezcal y tequila. El objetivo de la investigación fue realizar pruebas hematológicas de aves alimentadas con cantidades específicas de fibra de agave (FA; 0, 400, 800 y 1200 mg de FA kg<sup>-1</sup> de alimento). Los resultados mostraron que el tratamiento con 1200 mg de FA promovió un crecimiento normal en los pollos y mantuvo los valores estables en la diferenciación de los glóbulos blancos. Sin embargo, se observó un aumento significativo en el porcentaje de linfocitos, lo que indica una mejora en la función inmunológica de los pollos en el día 42 del experimento. Estos hallazgos sugieren que la adición de FA como prebiótico en la alimentación avícola puede ser una opción beneficiosa para mejorar la salud inmunológica de las aves de corral y reemplazar el uso de antibióticos como promotores del crecimiento. Se concluye con que, a medida que aumenta la cantidad de FA en la dieta, se pueden observar mayores beneficios para el sistema inmunológico de las aves.

**Palabras clave:** aditivo; crecimiento; dieta; hemático; función inmunológica, linfocito.

### Abstract

Research has shown that the use of prebiotics in poultry diets improves the digestive function of the gastrointestinal tract and has a positive impact on animal performance. In search of alternatives to antibiotics and synthetic additives in poultry feed, agave bagasse, a residue left over after extracting fermentable sugars for mezcal and tequila production, has been considered. The main objective was to carry hematological tests on chickens fed with specific amounts of agave fiber (FA; 0, 400, 800 y 1200 mg of FA kg<sup>-1</sup> of feed). The results showed that the treatment with 1200 mg of FA promoted normal growth in the chickens and maintained stable values in white blood cell differentiation. However, a significant increase in the percentage of lymphocytes was observed, indicating an improvement in the immune function of the chickens on day 42 of the experiment. These findings suggest that the addition of FA as a prebiotic in poultry feed may be a beneficial option to improve the immune health of poultry and replace the use of antibiotics as growth promoters. It is concluded that, as the amount of FA in the diet increases, greater benefits for the immune system of poultry can be observed.

**Keywords:** additive; growth; diet; hematic; immune function; lymphocyte.

## Introducción

El uso de prebióticos y probióticos como alternativas a los antibióticos en la industria avícola se ha convertido en una práctica creciente debido a la tendencia mundial de prohibir el uso de estos en el alimento como promotores del crecimiento<sup>1</sup>. Se ha demostrado con anterioridad, que la administración de prebióticos en la dieta mejora la funcionalidad digestiva del tracto gastrointestinal de las aves<sup>2</sup> y afecta positivamente el rendimiento animal al aumentar el peso corporal<sup>3</sup> y mejorar la eficiencia alimenticia<sup>4</sup>.

Basándose en estudios anteriores, en el sistema de producción animal se ha encontrado que los prebióticos funcionan como una alternativa aditiva natural, que permite la modulación de la microbiota bacteriana, el control celular hemático y la promoción del bienestar animal, así como una estimulación inmunológica y un mayor aprovechamiento de los nutrientes proporcionados en la dieta<sup>5</sup>; aunado a esto, se ha evaluado en múltiples ocasiones el uso de aditivos fibrosos como promotores prebióticos, demostrando que en la fermentación de las fibras se liberan diversos metabolitos secundarios que estimulan el sistema inmunológico y los cuales tienen un efecto antiinflamatorio y antioxidante con beneficios locales o sistémicos en el huésped<sup>6,7</sup>.

En búsqueda de nuevas soluciones y como alternativa de reemplazo de los antibióticos por aditivos naturales en las dietas de aves, se puede considerar como recurso el bagazo proveniente del agave, que es el residuo fibroso que queda después de que la cabeza de este es procesada para extraerle los azúcares fermentables para la obtención de los mostos que serán utilizados en la producción de mezcal<sup>8</sup> y tequila, y cuya importancia es relevante a nivel local y regional en México debido a las altas cantidades desechadas por dichos sectores, además de haberse demostrado que el efecto prebiótico del mismo supera al de algunas otras fibras dietéticas<sup>9</sup>. Por lo tanto, el objetivo de este estudio es evaluar la capacidad funcional de la fibra derivada del bagazo de agave para conocer el efecto que tiene sobre las variables hematológicas analizadas en pollos de engorda.

## Materiales y métodos

El experimento se realizó en la granja de producción avícola de la posta zootécnica ubicada en la Universidad de Guanajuato, Campus Irapuato –Salamanca.

Se engordaron 180 pollos machos de la línea Ross, de un día de edad, durante 42 días. Fueron distribuidos de manera aleatoria en 4 tratamientos de 3 repeticiones cada uno, colocando 15 aves en cada repetición. Las unidades experimentales se alimentaron con una dieta de iniciación desde el día 1 hasta el día 21, y con una dieta de finalización a partir del día 21 y hasta el día 42, ambas cubriendo los requerimientos del NRC (1994)<sup>10</sup>; utilizando la fibra derivada del bagazo de *Agave tequilana* Weber cv azul en distintas proporciones dependiendo del tratamiento a probar: T1 (dieta base), T2 (dieta base + 400 mg kg<sup>-1</sup> de alimento), T3 (dieta base + 800 mg kg<sup>-1</sup> de alimento) y T4 (dieta base + 1200 mg kg<sup>-1</sup> de alimento). El agua y alimento se ofrecieron *ad libitum*.

### Extracción sanguínea

A los 21 y 42 días de engorda se colectó 1 mL de sangre seleccionando de manera aleatoria 1 pollo de cada repetición, por medio de la punción del seno venoso occipital de las aves. Para recolectar sangre de este sitio, fue requerida una aguja 20Gx1/2" con colector de plástico y jeringa. Las muestras obtenidas en la jeringa fueron transferidas a tubos Eppendorf de microcentrifuga con capacidad de 1.5 mL preparados previamente con 20 µL de ácido etilendiaminatetraacético (EDTA) para su conservación y almacenamiento a 4° C.

### Técnicas de laboratorio

Después de recolectar la sangre, se hicieron tres extendidos sanguíneos para cada muestra obtenida; se utilizó la técnica estándar de dos deslizamientos, empleando portaobjetos de microscopio biselados y previamente limpiados para minimizar el daño celular durante la preparación de la película. Para evaluar el extendido secado al aire, se utilizó la tinción de Diff-Quik, manteniendo el portaobjetos dentro de la solución

fijadora por 5 s en intervalos de 1 s, utilizando los mismos tiempos con la solución I o tinción eosinófila, y reduciéndolo a 4 s para la solución II o tinción basófila.

Después de hacer el extendido sanguíneo, el resto de la muestra de sangre se usó para obtener el porcentaje de hematocrito, la concentración de hemoglobina y el recuento de células. El porcentaje de hematocrito se obtuvo centrifugando un tubo de microhematocrito lleno de sangre a 2500 r.p.m. durante diez minutos. La concentración de hemoglobina se midió espectrofotométricamente utilizando el método de cianometahemoglobina manual después de la eliminación de los núcleos de glóbulos rojos libres y los restos de membrana por medio del reactivo Drabkin de Hycel<sup>®</sup>, utilizando el procedimiento descrito en el producto y midiendo la absorbancia a 540 nm; el valor resultante se multiplicó por 36.77 para obtener la concentración total de hemoglobina ( $\text{g dL}^{-1}$ )<sup>11</sup>.

El recuento de glóbulos rojos (RBC) y glóbulos blancos (WBC) se obtuvo mediante el método manual de Natt y Herrick, citado por Campbell<sup>12</sup>, realizando previamente la preparación de un diluyente de violeta de metilo 2B. Para glóbulos rojos se hizo una dilución 1:200 de la sangre utilizando esta solución y una pipeta de dilución, y para glóbulos blancos se utilizó el mismo procedimiento, aunque en proporción 1:20. Después de mezclar, la sangre diluida se descargó en un hemocitómetro con reglas de Neubauer y las células se dejaron asentar en la superficie durante cinco min antes de la enumeración. Los glóbulos rojos se contaron utilizando los cuatro cuadrados de las esquinas y un cuadrado central pertenecientes al cuadrante primario grande central de la cámara. El número de glóbulos rojos contados se multiplica por 10,000 para obtener el recuento de glóbulos rojos por microlitro de sangre<sup>12</sup>. Los leucocitos que se tiñeron de oscuro se cuentan en los cuatro cuadrados grandes en las esquinas de la cámara del hemocitómetro y el resultado se multiplica por 50 para obtener el recuento de glóbulos blancos por  $\text{mm}^3$ .

### Diferenciación de leucocitos

El diferencial de glóbulos blancos fue realizado visualizando los extendidos sanguíneos teñidos anteriormente en campos de inmersión en aceite de monocapa (100x), con lo cual se determinaron valores relativos y absolutos de linfocitos, heterófilos, eosinófilos, monocitos y basófilos según Campbell y Maxine<sup>12,13</sup>.

### Análisis de datos

Para el análisis de los datos obtenidos se tomaron como base los valores de referencia descritos en resultados de hemogramas considerados normales en aves, citados por Campbell y Dein, en 1984<sup>14</sup>, Campbell, en 2013<sup>12</sup>, Sánchez-Torres, en 2021<sup>15</sup>, y en pollos de engorda, citado por Cardoso y Tessari, en 2003<sup>16</sup>.

## Resultados

En los Cuadros 1 y 2 se presentan los siguientes exámenes hematológicos de acuerdo con los valores obtenidos con sus medias calculadas a la semana 3 y 6: hematocrito (PVC%), hemoglobina (Hb), RBC, WBC, los valores relativos absolutos de linfocitos (Lin), heterófilos (Het), monocitos (Mon), eosinófilos (Eos) y basófilos (Bas).

**Cuadro 1.** Valores hematológicos obtenidos en pollos a la tercera (día 21) y sexta (día 42) semana de engorda con distintos tratamientos.

| Tratamientos          | PVC (%) | Hb (g dL <sup>-1</sup> ) | RBC (10 <sup>6</sup> µL) | WBC (10 <sup>3</sup> µL) |
|-----------------------|---------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| <b>Tercera Semana</b> |         |                          |                          |                          |
| T1                    | 35.8    | 12.9                     | 2.06                     | 6.37                     |
| T2                    | 35.0    | 12.9                     | 2.54                     | 8.72                     |
| T3                    | 34.3    | 16.4                     | 2.40                     | 10.92                    |
| T4                    | 40.8    | 14.1                     | 2.22                     | 7.62                     |
| <b>Sexta Semana</b>   |         |                          |                          |                          |
| T1                    | 48.2    | 18.6                     | 2.97                     | 6.82                     |
| T2                    | 42.5    | 14.5                     | 2.03                     | 15.52                    |
| T3                    | 51.8    | 16.5                     | 3.37                     | 8.08                     |
| T4                    | 49.7    | 14.6                     | 2.25                     | 12.90                    |

T1 (dieta base), T2 (dieta base + 400 mg FA kg<sup>-1</sup> de alimento); T3 (dieta base + 800 mg FA kg<sup>-1</sup> de alimento), T4 (dieta base + 1200 mg FA kg<sup>-1</sup> de alimento, PVC (hematocrito), Hb (hemoglobina), RBC (recuento de glóbulos rojos), WBC (recuento de glóbulos blancos).

**Cuadro 2.** Valores relativos absolutos obtenidos en el diferencial de leucocitos a la tercera (día 21) y sexta (día 42) semana de engorda con distintos tratamientos

| Tratamientos          | Lin (% µL) | Het (% µL) | Mon (% µL) | Eos (% µL) | Bas (% µL) |
|-----------------------|------------|------------|------------|------------|------------|
| <b>Tercera Semana</b> |            |            |            |            |            |
| T1                    | 25.6       | 21.6       | 52.0       | 0.3        | 0.3        |
| T2                    | 27.6       | 22.0       | 49         | 0.6        | 0.6        |
| T3                    | 26.0       | 17.3       | 56.3       | 0.0        | 0.3        |
| T4                    | 25.3       | 18.0       | 56.3       | 0.0        | 0.3        |
| <b>Sexta Semana</b>   |            |            |            |            |            |
| T1                    | 27.6       | 19.6       | 52.3       | 0.3        | 0.0        |
| T2                    | 41.6       | 14.6       | 41.6       | 0.6        | 1.3        |
| T3                    | 55.3       | 7.0        | 37.6       | 0          | 0          |
| T4                    | 31.6       | 15.3       | 52.3       | 0.3        | 0.3        |

T1 (dieta base), T2 (dieta base + 400 mg FA kg<sup>-1</sup> de alimento); T3 (dieta base + 800 mg FA kg<sup>-1</sup> de alimento), T4 (dieta base + 1200 mg FA kg<sup>-1</sup> de alimento, Lin (linfocitos), Het (heterocitos), Mon (monocitos), Eos (eosinófilos), Bas (basófilos).

De acuerdo con lo observado a la sexta semana, T3 fue el tratamiento con mayor porcentaje de PVC, así como el RBC más elevado; todo lo contrario, a T2, que obtuvo los valores más bajos tanto en PVC y Hb, como en RBC. Por su parte, los resultados más altos en Hb y WBC le corresponden a T1 y T2 respectivamente. Dentro de la fórmula leucocitaria, T3 muestra los valores más altos de Lin, de la misma forma que T2 domina levemente en Eos y Bas. Para el porcentaje de Het, T1 cuenta con el resultado más elevado. T1 y T4 mostraron los mismos valores dentro de Mon, aunque comparando con las otras variables, T4 fue el tratamiento que se mantuvo más constante y sin tanta diferencia durante todo el estudio.

## Discusión

Dada la escasez de información regional sobre el uso de la FA como prebiótico en pollos de engorda, se realizó el presente experimento con el fin de conocer el efecto que tiene esta sobre las variables hematológicas más importantes que pueden ser analizadas en estas aves. El recuento de leucocitos, cuando se analiza adecuadamente y se interpretan los datos, es un complemento valioso para el diagnóstico, el pronóstico y la evolución de las enfermedades infecciosas<sup>17</sup>.

Los valores hematológicos promedio observados en las aves durante el estudio de hematocrito y hemoglobina, fueron mayores para T1 y T3, y similares en T2 y T4 a los reportados por Sánchez-Torres<sup>15</sup>. Sin embargo, en el recuento de eritrocitos, el único tratamiento con valores similares fue T4, ya que en T2 los niveles estaban disminuidos, y para T1 y T3 se encontraban elevados, de acuerdo con Cardoso y Tessari<sup>16</sup>. Los resultados en el recuento de leucocitos se encontraron similares a los registrados por Campbell<sup>12</sup> en T1 y T3, y aumentados para T2 y T4.

El aumento de leucocitos puede haber sido provocado por alguna infección general o localizada de la que no se observaron ni encontraron signos. En consecuencia, el porcentaje de eosinófilos y basófilos también difirió. Entre tanto, y de acuerdo con la investigación de Sánchez-Torres<sup>15</sup>, se encontraron algunas similitudes en el diferencial leucocitario; pues T1 coincidió en todos los valores registrados en la investigación y T4 se vio afectado únicamente en el porcentaje de linfocitos, mostrándose levemente elevado.

Los valores de T2 y T3 se vieron de igual forma elevados en linfocitos, y disminuidos en heterocitos y monocitos, siendo más grande la diferencia en el último tratamiento. La diferencia de condiciones tanto ambientales como de vivienda a las que fueron expuestas las aves pueden haber afectado estos valores, pero todos los experimentos se llevaron a cabo con pollos de engorda y en situaciones de aleatoriedad.

Campbell y Dein<sup>14</sup> informaron que los parámetros hematológicos pueden variar entre las especies, el sexo, la edad, el medio ambiente y las influencias hormonales. Teniendo en cuenta esto, se encontró que solo hubo diferencia en los tratamientos proporcionados como alimento para el estudio, los demás parámetros fueron similares. Esto nos permite inferir que los tratamientos utilizados en el experimento sí tuvieron un impacto significativo sobre los valores hematológicos.

## Conclusión

Los resultados obtenidos en este estudio demuestran que las dietas de pollos de engorda suplementadas con 400-1200 mg de fibra de agave  $\text{kg}^{-1}$  de alimento tendieron a aumentar levemente el hematocrito, así como el porcentaje de linfocitos en el periodo de iniciación (0-21 días) y de mayor forma para el periodo de finalización (21-42 días).

La adición de fibra de agave como prebiótico en 1200 mg  $\text{kg}^{-1}$  de alimento supone un progreso normal en el crecimiento de los pollos, manteniendo estables los valores encontrados dentro del diferencial de glóbulos blancos, aunque aumentando notoriamente en el porcentaje de linfocitos, mejorando así la función inmunológica leucocitaria en el día 42. Esto sugiere que, a mayor cantidad de fibra de agave adicionada en la dieta, mayores ventajas inmunitarias se podrán observar.

## Bibliografía/Referencias

1. Huang, Q., Wei, Y., Lv, Y., Wang, Y., & Hu, T. (2015). Effect of dietary inulin supplements on growth performance and intestinal immunological parameters of broiler chickens. *Livestock Science*, 180, 172–176. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2015.07.015>
2. Nahashon, S. N., Nakae, H. S., & Mirosh, L. W. (1994). Production Variables and Nutrient Retention in Single Comb White Leghorn Laying Pullets Fed Diets Supplemented with Direct-Fed Microbials. *Poultry Science*. <https://doi.org/10.3382/ps.0731699>
3. Torres-Rodríguez, A., Higgins, S., Vicente, J. L., Wolfenden, A. D., Gaona-Ramírez, G., Barton, J., Tellez, G., Donoghue, A. M., & Hargis, B. M. (2007). Effect of Lactose as a Prebiotic on Turkey Body Weight Under Commercial Conditions. *The Journal of Applied Poultry Research*, 16(4), 635–641. <https://doi.org/10.3382/japr.2006-00127>
4. Taylor & Francis Group. (n.d.). Performance and antibody response of broiler chickens fed diets containing probiotic and prebiotic. Taylor & Francis. <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/09712119.2011.565222>
5. Castro, M. y Rodríguez, F. 2005. Levaduras: probióticos y prebióticos que mejoran la producción animal. *Ciencia y Tecnología Agropecuaria*.
6. Makki, K., Deehan, E., Walter, J. & Bäckhed, F. 2018. The impact of dietary fiber on gut microbiota in host health and disease. *Cell and host microbe*. 23 (6):705-715. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2018.05.012>
7. Gasaly, K., Riveros, K., & Gotteland, M. 2020. Fitoquímicos: una nueva clase de prebióticos. *Revista Chilena de Nutrición*. 47 (2):317-327. <https://doi.org/10.4067/S0717-75182020000200317>
8. Iñiguez, C. G.; Bernal, C. J. J.; Ramírez, M. W. and Villalvazo, N. J. 2014. Recycling agave bagasse of the tequila industry. *Adv. Chem. Eng. Sci.* 4(2):135-142.
9. Monter, M. a. A., De Gatta Sánchez, D. F., Ruiz, R. P., Muñoz, S. S. G., Gama, J. R. B., Hernández-Mendo, O., & Torres-Salado, N. (2018). Efecto prebiótico de dos fuentes de inulina en el crecimiento in vitro de *Lactobacillus salivarius* y *Enterococcus faecium*. *Revista Mexicana De Ciencias Pecuarias*, 9(2), 346. <https://doi.org/10.22319/rmcp.v9i2.4488>
10. Grashorn, M. A. (2017). 21st Symp. of Poultry Nutrition. Salou/Vila-seca, <https://seleccionesavicolas.com/pdf-files/2017/9/24-28-requerimientos-nutricionales-pollos-engorde-diferente-capacidad-crecimiento-SA201709.pdf>
11. Samour, J. 2007. Chapter 22: Diagnostic value of hematology. En Harrison G, Lighthfoot T. *Clinical Avian Medicine*. 2: 588-610. [http://avianmedicine.net/wpcontent/uploads/2013/08/22\\_hematology.pdf](http://avianmedicine.net/wpcontent/uploads/2013/08/22_hematology.pdf)
12. Campbell, T. 2013. Chapter 9: Hematology. In Ritchie B, Harrison, G., Harrison, L. *Avian medicine principles and application*. pp: 177-198.
13. Maxine B. *Manual de patología clínica*. México: Limusa; 1984. p. 13-15.
14. Campbell, TW, Dein, FJ. *Avian hematology. The basics*. *Vet Clin North Am Small Anim Pract*. 1984; 14(2):223-48.
15. Sánchez-Torres, L. (2021). Variables hematológicas en aves deportivas, ganso común, pato doméstico, pato azteca, guajolote y pollo de engorda. Sánchez-Torres | *Abanico Agroforestal*. <https://abanicoacademico.mx/revistasabanico/index.php/abanico-agroforestal/article/view/311717>
16. Cardoso ALSP, Tessari ENC. Estudo dos parâmetros hematológicos em frangos de corte. *Arq Inst Biol*. 2003; 70(4):419-24.
17. Bounous DI, Stedman NL. Normal avian hematology: chicken and turkey. En: Feldman BF, Zinkl JG, Jain NC. *Schalm's veterinary hematology*. 5a. ed. Philadelphia: Lippincot, Williams y Wilkins; 2000. p. 1147-54.