

***Reducción de la deposición de grasa abdominal en el pollo de carne mediante
la modificación del perfil de ácidos grasos de la dieta***

Tesis presentada por
Nieves Crespo Alcarria

Bajo la dirección de
Dr. Enric Esteve-Garcia

Para acceder al grado de Doctor por la
Universitat Rovira i Virgili

AGRADECIMIENTOS

Deseo dedicar esta Tesis a todas las personas que durante su realización me han ayudado, apoyado y animado y que han hecho grato y satisfactorio todo el tiempo dedicado.

A mi director de tesis, el Dr. Enric Esteve-Garcia, por su gran ayuda, dedicación y paciencia que han permitido la elaboración de esta tesis. Por toda la confianza que ha depositado en mi, hasta el último momento.

Al Dr. Joaquim Brufau, Director del Dpto. de Nutrición y los investigadores Dra. Maria Francesch, Dr. David Torrallardona y Dr. Rosil Guiomar, por su apoyo y constante disponibilidad. Especial agradecimiento a la Dra. Anna M^a Pérez, por su gran ayuda en el laboratorio y su gran calidad humana.

A Candy Segarra, por su incondicional amistad, su inestimable ayuda desde el primer momento y por estar siempre "ahí", dispuesta a echar una mano, tanto en los buenos como en los malos momentos.

A Manoli, Lola y LuisMi, por los buenos momentos que hemos pasado en el laboratorio y a mis compañeros becarios Sergio, Joan, Serena, Rosa, Laura y Jordi.

A Ramón Salvadó, Alfonso, Kika, Anna Pinto, Lluís Llauredó y Lluís Padrell por su gran ayuda en cuestiones administrativas, logísticas y técnicas.

A las Dras. Cinta Bladé, Pepa Salvadó y M^o Teresa Segués, y a todo el Dpto. de Bioquímica y Biotecnología de la Facultad de Química de la URV, y a Antonio de la Torre y el Dr. Martí Yebras del Servei de Recursos Científics de la URV, por haber puesto a mi disposición las instalaciones y el material necesario para la realización de una parte muy importante de esta Tesis. A Santiago Moreno, por la gran ayuda prestada en el laboratorio.

A la Dra. Anna Bassols y a Yolanda Saco, del Dpto. de Bioquímica de la Facultad de Veterinaria de la UAB. Por su colaboración en las determinaciones bioquímicas.

Mi más sincero y gran agradecimiento a la Unidad de Nutrición y Alimentación Animal de la Facultad de Veterinaria de la UAB y especialmente a la Dra. M^o Dolores Baucells, por permitirme trabajar con ellos e iniciarme en el campo de la nutrición animal.

A mi familia

A mi compañero y amigo, Carlos Chanquía

ÍNDICE GENERAL

INTRODUCCIÓN GENERAL	1
SECCIÓN A: REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	6
1. INTRODUCCIÓN	8
2. DEPOSICIÓN DE GRASA EN EL POLLO DE CARNE	8
2.1. EL TEJIDO ADIPOSO.....	8
2.2. DISTRIBUCIÓN DEL TEJIDO ADIPOSO EN AVES.....	8
2.3. CRECIMIENTO DE LOS DEPÓSITOS LIPÍDICOS EN POLLO DE CARNE	9
2.2. ¿POR QUÉ LA SELECCIÓN GENÉTICA HA PRODUCIDO UN MAYOR ENGRASAMIENTO?	12
3. METABOLISMO LIPÍDICO EN EL POLLO DE CARNE	14
3.1. DEFINICIÓN DE LÍPIDOS Y SU USO EN ALIMENTACIÓN ANIMAL	14
3.2. DIGESTIÓN DE LOS LÍPIDOS.....	14
3.2.1. Emulsión y formación de micelas	14
3.2.2. Absorción de lípidos	16
3.3. METABOLISMO DE LAS LIPOPROTEÍNAS	17
3.3.1. Metabolismo de los portomicrones	18
3.3.2. Metabolismo de las VLDL.....	18
3.3.3. Metabolismo de las IDL y LDL	20
3.3.4. Metabolismo de las HDL.....	21
3.4. LIPOPROTEINLIPASA	21
3.5. SÍNTESIS DE ÁCIDOS GRASOS	23
3.5.1. Regulación de la lipogénesis	24
3.6. LIPÓLISIS Y OXIDACIÓN LIPÍDICA	26
3.7. HORMONAS REGULADORAS DEL METABOLISMO LIPÍDICO EN AVES.....	28
3.7.1. Insulina.....	28
3.7.1.1. Efecto de la insulina sobre el metabolismo de carbohidratos	28
3.7.1.2. Efecto de la insulina sobre el metabolismo lipídico	29
3.7.2. Glucagón	29
4. FACTORES QUE AFECTAN A LA DEPOSICIÓN DE GRASA EN EL POLLO. 31	
4.1. MODIFICACIÓN DE LA DEPOSICIÓN DE GRASA MEDIANTE SELECCIÓN GENÉTICA.....	31
4.1.1. Selección genética hacia un mejor índice de conversión.....	31
4.1.2. Selección genética hacia un menor contenido de grasa abdominal.....	32

4.1.3. Diferencias metabólicas entre las líneas grasas y magras de pollos.....	34
4.2. DIFERENTE DEPOSICIÓN DE GRASA ENTRE MACHOS Y HEMBRAS.....	40
4.3. FACTORES AMBIENTALES QUE MODIFICAN LA DEPOSICIÓN DE GRASA.....	40
4.4. FACTORES NUTRICIONALES QUE MODIFICAN LA DEPOSICIÓN DE GRASA.....	41
4.4.1. Pautas de alimentación.....	41
4.4.2. Ingestión de energía	42
4.4.3. Relación energía:proteína.....	42
4.4.4. Grasa alimentaria.....	45
4.4.4.1. Mayor concentración energética.....	45
4.4.4.2. Efecto extracalórico.....	46
4.5. EFECTO DEL PERFIL DE ÁCIDOS GRASOS SOBRE LA UTILIZACIÓN DE LA GRASA.....	46
4.5.1. Parámetros productivos y la digestibilidad de la grasa.....	46
4.5.2. Grasa dietética y deposición de grasa.....	48
5. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	52
SECCIÓN B: OBJETIVOS.....	61
6. OBJETIVOS	63
SECCIÓN C: MATERIAL Y MÉTODOS	65
7. ENSAYOS EXPERIMENTALES.....	67
8. TÉCNICAS ANALÍTICAS	73
8.1. DETERMINACIÓN DE COLESTEROL EN TEJIDO MUSCULAR DE POLLO... ..	73
8.1.1. Método analítico.....	73
8.1.1.1. Extracción de la grasa.....	73
8.1.1.2. Saponificación.....	73
8.1.1.3. Condiciones del cromatógrafo	73
8.1.2. Validación del método	74
8.1.2.1. Linealidad.....	74
8.1.2.2. Selectividad	75
8.1.2.3. Precisión.....	76
8.1.2.4. Exactitud.....	76
8.2. DETERMINACIÓN DE VLDL EN PLASMA DE POLLO.....	77
8.2.1. Método analítico	77
8.2.2. Validación del método	77
8.2.2.1. Linealidad.....	78
8.2.2.2. Precisión.....	79
8.2.2.3. Estabilidad	79

SECCIÓN D: TRABAJO EXPERIMENTAL82

9. TRABAJO EXPERIMENTAL 1 84

Dietary Fatty Acid Profile Modifies Abdominal Fat Deposition In Broiler Chickens..... 84

9.1. ABSTRACT 86

9.2. INTRODUCTION..... 87

9.3. MATERIAL AND METHODS..... 87

9.3.1. Animals and Diets..... 87

9.3.2. Abdominal Fat Pad..... 88

9.3.3. Breast and Thigh Muscles 88

9.3.4. Cholesterol Determination..... 88

9.3.5. Fatty Acid Determination..... 89

9.3.6. Statistical Analysis..... 89

9.4. RESULTS AND DISCUSSION..... 89

9.4.1. Performance Parameters 89

9.4.2. Abdominal Fat..... 90

9.4.3. Muscle Fat and Protein..... 91

9.4.4. Muscle Cholesterol..... 91

9.4.5. Fatty Acid Composition of Abdominal Fat, Thigh and Breast Muscle 91

9.5. CONCLUSIONS 92

9.6. REFERENCES..... 94

9.7. TABLAS Y FIGURAS TRABAJO EXPERIMENTAL 1 98

10. TRABAJO EXPERIMENTAL 2 108

Dietary Polyunsaturated Fatty Acids Decrease Fat Deposition in Separable Fat Depots but not in the Remainder Carcass..... 108

10.1. ABSTRACT 110

10.2. INTRODUCTION..... 110

10.3. MATERIAL AND METHODS..... 111

10.3.1. Experimental Diets 111

10.3.2. Experiment 1 111

10.3.3. Experiment 2..... 112

10.3.4. Statistical Análisis..... 112

10.4. RESULTS AND DISCUSSION..... 113

10.5. CONCLUSIONS 115

10.6. ACKNOWLEDGEMENTS	115
10.7. REFERENCES.....	118
10.8. TABLAS Y FIGURAS TRABAJO EXPERIMENTAL 2.....	120
11. TRABAJO EXPERIMENTAL 3.....	128
Nutrient and Fatty Acid Deposition in Broilers Fed Different Dietary Fatty Acid Profiles.....	128
11.1. ABSTRACT.....	130
11.2. INTRODUCTION.....	130
11.3. MATERIAL AND METHODS.....	131
11.3.1. Animals and Diets.....	131
11.3.2. Analytical Determinations.....	132
11.3.3. Statistical Analysis.....	133
11.4. RESULTS AND DISCUSSION.....	133
11.5. CONCLUSIONS	138
11.6. ACKNOWLEDGEMENTS	138
11.7. REFERENCES.....	138
11.8. TABLAS Y FIGURAS TRABAJO EXPERIMENTAL 3.....	143
12. TRABAJO EXPERIMENTAL 4.....	153
Dietary Linseed Oil Produces Lower Abdominal Fat Deposition but Higher de novo Fatty Acid Synthesis in Broiler Chickens.	153
12.1. ABSTRACT.....	155
12.2. INTRODUCTION.....	155
12.3. MATERIAL AND METHODS.....	156
12.3.1. Experiment 1.....	156
12.3.2. Experiment 2.....	157
12.3.3. Statistical Analysis.....	158
12.4. RESULTS	158
12.4.1. Experiment 1.....	158
12.4.2. Experiment 2.....	158
12.5. DISCUSSION.....	160
12.6. CONCLUSIONS	162

12.7. ACKNOWLEDGEMENTS	162
12.8. REFERENCES.....	164
12.9. TABLAS Y FIGURAS TRABAJO EXPERIMENTAL 4.....	166
13. RABAJO EXPERIMENTAL 5	176
Polyunsaturated Fatty Acids Reduce Insulin and VLDL Secretion in Broiler Chickens.....	176
13.1. ABSTRACT.....	178
13.2. INTRODUCTION.....	178
13.3. MATERIAL AND METHODS.....	179
13.3.1. Animals and Facilities.....	179
13.3.2. Experimental Diets.....	179
13.3.3. Biochemical Determinations.....	180
13.3.4. Statistical Analysis.....	180
13.4. RESULTS AND DISCUSSION.....	181
13.5. CONCLUSIONS	182
13.6. ACKNOWLEDGEMENTS	182
13.7. REFERENCES.....	183
13.8. TABLAS Y FIGURAS TRABAJO EXPERIMENTAL 5.....	186
SECCIÓN E: DISCUSIÓN GENERAL	192
14. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	199
SECCIÓN F: CONCLUSIONES.....	200
ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS	

1. TABLAS Y FIGURAS: REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

Tabla 1.1 :Peso y grasa de la carcasa de estirpes de pollo del año 1957 y 1991	3
Tabla 1.2: Contribución de los diferentes sitios de deposición de grasa al peso vivo y a la grasa corporal total del broiler.	9
Tabla 1.3: Coeficientes de alometría de diferentes depósitos lipídicos en diferentes líneas de pollos	11
Tabla 1.4: Porcentaje de reducción del coeficiente alométrico entre líneas grasas y magras.....	11
Figura 1.1: Acción de la lipasa pancreática.....	15
Figura1.2: Síntesis de lípidos en el enterocito y formación de portomicrones	17
Tabla 1.5: Principales características de las lipoproteínas de pollos	17
Tabla 1.6: Apoproteínas en humanos y aves	18

Figura 1.3: Metabolismo de las lipoproteínas en aves	19
Figura 1.4: Esquematación del complejo enzimático ácido graso sintasa.....	23
Figura 1.5: Suministro de Acetil-CoA y NADPH para la síntesis de ácidos grasos.....	25
Tabla 1.7: Valores de heredabilidad del engrasamiento del pollo de carne.....	31
Tabla 1.8: Cambios en la retención de grasa y proteína en líneas de pollos grasas y magras	37
Figura 1.6: Incorporación de ¹⁴ C-leucina dietética en el tejido adiposo de líneas grasas y magras de broilers .	38
Tabla 1.9: Grasa abdominal, triglicéridos y glucosa plasmáticos en líneas de pollos grasas (LG) y magras (LM) seleccionadas según diferentes criterios	39
Tabla 1.10: Grasa abdominal y glucosa plasmática en líneas grasas (LG) y magras (LM) de pollos	39
Figura 1.7: Efecto de la temperatura ambiental sobre la deposición de grasa en pollos de 7 semanas de edad	41
Figura 1.8: Aumento de la deposición de grasa al aumentar la energía de la ración y mantener constante el contenido en proteína.....	42
Tabla 1.11: Efecto de la relación E:P y la concentración energética de la ración sobre el peso vivo y la deposición de grasa en broilers	43
Figura 1.9: Interrelación del metabolismo proteico, lipídico y de carbohidratos	44
Figura 1.10: Efecto de la sustitución de diferentes tipos de grasa animal por aceite de colza sobre los parámetros productivos de pollos Broiler a los 49 días.....	46
Tabla 1.12: Efecto del grado de insaturación de la grasa dietética sobre los parámetros productivos de pollos Broiler desde los 23 días hasta los 2 kg de peso vivo.	47
Figura 1.11: Efecto del grado de insaturación de la dieta sobre la digestibilidad de la grasa y la EMAn de la dieta	47
Figura 1.12: Porcentaje de grasa abdominal con diferentes tipos de grasa y diferentes niveles de inclusión en la dieta.....	49
Tabla 1.13: Efecto de diferentes tipos de grasa en la dieta sobre la deposición de grasa abdominal y corporal de pollos Broiler	50

2. TABLAS Y FIGURAS: MATERIAL Y MÉTODOS

Figura 2.1: Representación esquemática de los ensayos realizados y los trabajos experimentales presentados	69
Tabla 2.1: Composición de las grasas y dietas experimentales utilizados	71
Figura 2.2: Depósitos lipídicos aislados en el ensayo experimental 3.....	72
Tabla 2.2: Valores de la recta de calibración para la determinación de colesterol mediante HPLC.....	74
Figura 2.3: Recta de calibración para la determinación de colesterol mediante HPLC	75
Tabla 2.3: Selectividad del método de determinación de colesterol mediante HPLC	75
Tabla 2.4: Precisión del método de determinación de colesterol mediante HPLC	76
Tabla 2.5: Exactitud del método de determinación de colesterol mediante HPLC	77
Tabla 2.6: Valores de la recta de calibración del método de determinación de VLDL en plasma de pollo	78
Figura 2.4: Recta de calibración para la determinación de VLDL en plasma de pollo.....	78
Tabla 2.7: Test de repetibilidad del método de determinación de VLDL en plasma de pollo	79
Tabla 2.8: Estabilidad del método de determinación de VLDL en plasma de pollo.....	79

3. TABLAS Y FIGURAS: TRABAJO EXPERIMENTAL 1

Table 3.1: Ingredients and nutrient composition of experimental diets	100
Table 3.2: Fatty acid composition of supplemented fats and experimental diets (mg/g fat)	101
Table 3.3: Performance parameters and abdominal fat pad content.....	101

Table 3.4: Fat, protein and cholesterol content of thigh and breast, and lipid content of abdominal fat pad of females fed diets containing 10% fat.....	102
Table 3.5: Comparison of fatty acid composition per treatment in each tissue and per tissue in each treatment (mg/g fat)	104
Figure 3.1: Fatty acid composition of abdominal, thigh and breast fat of females fed 10% fat.	106

4. TABLAS Y FIGURAS: TRABAJO EXPERIMENTAL 2

Table 4.1: Ingredients, nutrient composition and fatty acid profile of experimental diets	122
Table 4.2: Performance parameters	123
Table 4.3: Experiment 1. Final weight and body composition	123
Table 4.4: Abdominal fat of broilers from Experiments 1 and 2.....	124
Table 4.5: Fat depots of broilers from Experiment 2	124
Table 4.6: Regression equations of birds from Experiment 1	125
Table 4.7: Regression equations of birds from Experiment 2	126
Figure 4.1: Linear regression of the mesenteric fat with respect to abdominal fat of birds from Experiment 2...	126

5. TABLAS Y FIGURAS: TRABAJO EXPERIMENTAL 3

Table 5.1: Fatty acid composition of oils and experimental diets (g/100g fat).....	145
Table 5.2: Body composition and abdominal fat.....	146
Table 5.3: Energy balance per 100g of weight gain (kcal)	147
Table 5.4: Fat balance per 100g of weight gain (g).....	148
Table 5.5: Nitrogen balance per 100g weight gain (g)	148
Table 5.6: Fatty acid balance	149
Table 5.7: Total body fatty acid (% of incremented fat).....	150
Table 5.8: Total body fatty acid (g/100g fat).....	151
Figure 5.1: Equations for energy and nutrient balance.....	152

6. TABLAS Y FIGURAS: TRABAJO EXPERIMENTAL 4

Table 6.1: Ingredients, nutrient composition and fatty acid profile of experimental diets.....	168
Table 6.2: Fatty acid composition of diets (Experiment 2) (g/100g fat)	169
Table 6.3: Abdominal fat, liver fat and liver fatty acid content of broilers used for the lipogenesis test.....	170
Table 6.4: Effects of different dietary fat on <i>in vivo</i> lipogenesis	170
Table 6.5: Performance parameters of birds from Experiment 2 (28-53 days).....	172
Table 6.6: Liver weight, liver fat content and abdominal fat of broilers from Experiment 2.....	172
Table 6.7: Fatty acid composition of livers from Experiment 2 (g/100g fat)	173
Figure 6.1: Liver to dietary fatty acid ratio (Experiment 2)	174

7. TABLAS Y FIGURAS: TRABAJO EXPERIMENTAL 5

Table 7.1: Ingredients, nutrient composition and fatty acid profile of experimental diets.....	188
Table 7.2: VLDL and insulin concentration in fasted and fed state	189
Table 7.3: Regression equations of VLDL (mg/ml) respect to abdominal fat (%)	189
Figure 7.1: Linear regression of plasma VLDL (mg/ml) against abdominal fat (%).....	190

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

- ^{14}C Isótopo radiactivo del carbono
- ^3H Tritio (isótopo radiactivo del hidrógeno)
- $^3\text{H}_2\text{O}$ Agua tritiada
- ACP Acil coupling protein (Proteína transportadora del grupo acilo)
- ADP Difosfato de adenosina
- AF Abdominal fat (grasa abdominal)
- AG Ácido/s graso/s
- AGL Ácidos grasos libres o no esterificados
- AGMI Ácido/s graso/s monoinsaturado/s
- AGPI Ácido/s graso/s poliinsaturado/s
- AGS Ácido/s graso/s saturado/s
- AMPc Monofosfato de adenosina cíclico
- ATP Trifosfato de adenosina
- CoA Coenzima A
- d Día
- Dpm Desintegraciones por minuto
- E:P Cociente energía / proteína
- EMA Energía metabolizable aparente
- EMAN Energía metabolizable aparente corregida para el nitrógeno en heces
- F:G Feed to gain ratio (cociente pienso/crecimiento o índice de conversión)
- FABP Fatty acid binding protein (proteína transportadora de ácidos grasos)
- FE Feed efficiency (eficiencia de la ración o índice de conversión)
- g gramo/s
- GC Gas chromatography (cromatografía de gases)
- HDL High density lipoprotein/s (Lipoproteína/s de alta densidad)
- HPLP High performance liquid chromatography (Cromatografía líquida de alta resolución)
- IC Índice de conversión
- IDL Intermediate density lipoprotein/s (Lipoproteína/s de densidad intermedia)
- IGF-I Insulin-like growth factor (factor de crecimiento similar a la insulina)
- kg Kilo/s
- L Litro/s
- LCAT Lecitín-colesterol-aciltransferasa
- LDL Low density lipoprotein/s (Lipoproteína/s de baja densidad)
- LH Lipasa hepática
- LPL Lipoproteinlipasa o lipasa de la lipoproteína
- mg Miligramo/s
- ml Mililitro/s

- MUFA Monounsaturated fatty acid/s (ácido/s graso/s monoinsaturado/s)
- NAD⁺ Dinucleótido de nicotinamida y adenina oxidado
- NADH Dinucleótido de nicotinamida y adenina reducido
- NADP⁺ Fosfato del dinucleótido de nicotinamida y adenina oxidado
- NADPH Fosfato del dinucleótido de nicotinamida y adenina reducido
- NEFA Nonesterified fatty acids (ácidos grasos no esterificados)
- NRC National research council
- °C Grados centígrados
- PM Portomicrón/es
- PUFA Polyunsaturated fatty acid/s (ácido/s graso/s poliinsaturado/s)
- QM Quilomicrón/s
- SFA Saturated fatty acid/s (ácido/s graso/s saturado/s)
- SFD Separable fat depots
- T₃ Triiodotironina
- T₄ Tetraiodotironina
- TA Tejido adiposo
- TG Triglicérido/s
- VLDL Very low density lipoprotein (Lipoproteína de muy baja densidad)

INTRODUCCIÓN GENERAL

En las últimas décadas se ha producido un importante cambio en la producción avícola. La utilización de dietas cada vez más eficientes junto con los avances en la selección genética, sanidad, instalaciones y manejo han permitido una mayor eficiencia de producción del pollo. Así, mientras que en los años 50 eran necesarios unos 85 días para que un pollo de carne alcanzara un peso de 1.800 gramos, actualmente este periodo se reduce a 36 días, mejorándose además el índice de conversión (IC) en más de un 50%. Actualmente es necesario 1,8kg de pienso por cada kg de pollo producido, en comparación de los 3,8 kg necesarios en los años 50. Por tanto, es obvio que el coste de producción se ha visto reducido considerablemente, lo cual ha permitido a este tipo de carne situarse entre las más (si no la que más) competitivas del mercado, en cuanto a precio se refiere.

La selección genética se vio dirigida principalmente hacia un mayor peso vivo, mayor consumo de alimento o mayor velocidad de crecimiento. De esta forma se ha obtenido un pollo con mayor peso vivo a una determinada edad, respecto a las líneas no seleccionadas. Sin embargo, paralelamente a esta mayor velocidad de crecimiento se ha producido un mayor engrasamiento, consecuencia, según algunos autores, de un mayor apetito y por tanto, un consumo de energía excesivo (Lin, 1981; Soller y Eitan, 1984). Otros autores (Fisher, 1984) sugieren que este mayor engrasamiento se produce simplemente por el mayor crecimiento, y que la deposición de grasa en ambas estirpes podría ser la misma a un determinado peso o en un determinado estado de madurez.

Havenstein y col., (1994b) realizan un estudio en el cual comparan estirpes del año 1957 frente a estirpes del año 1991 alimentadas con dietas típicas de ambos periodos hasta la edad de 43, 57, 71 y 85 días. Para una misma edad, se observa un mayor porcentaje de deposición de grasa abdominal y de grasa en la carcasa, en las estirpes más modernas, independientemente de la dieta utilizada (Tabla 1.1). Aunque no se llegan a comparar ambas estirpes a un mismo peso vivo, la elevada correlación positiva encontrada entre la velocidad de crecimiento y el porcentaje de grasa en el pollo (Leclercq y col., 1980), indicaría que un pollo que alcanza un mayor peso vivo en un tiempo inferior presentaría una mayor deposición de grasa en términos relativos.

Tabla 1.1: Peso y grasa de la carcasa de estirpes del año 1957 y 1991

Estirpe	Dieta	43 días		57 días		71 días		85 días	
		Peso (g)	Grasa (%)	Peso (g)	Grasa (%)	Peso (g)	Grasa (%)	Peso (g)	Grasa (%)
MACHOS									
1991	1991	1.515	14,3	2.367	14,5	2.965	12,5	3.424	17,5
1957	1957	343	8,2	539	8,6	740	6,8	1.016	8,9

1991	1957	1119	12,5	1998	13,0	2600	13,1	3179	13,4
1957	1991	413	9,1	731	10,6	962	12,6	1226	11,7
HEMBRAS									
1991	1991	1.264	14,0	-	-	2.286	18,2	2.978	17,6
1957	1957	286	8,7	451	10,3	609	9,4	789	12,2
1991	1957	1.040	13,4	1.730	14,5	2.085	17,4	2.586	19,7
1957	1991	342	7,7	579	11,6	749	15,8	954	11,2
Estirp		**	*	**	**	**	*	**	*
e		**	N.S.	**	*	**	N.S.	**	N.S
Dieta									

(Havenstein y col., 1994b)

Este mayor engrasamiento del pollo de carne implica un mayor porcentaje de material de desecho en el procesado industrial del pollo. Si en el mercado español nos encontramos con un pollo que llega a matadero con un peso de entre 2 y 2,5 Kg., de éstos, de un 15 a un 20% es grasa corporal y un 2-3% constituye la grasa abdominal. Teniendo en cuenta que el pollo se cotiza por kg de peso vivo, la grasa abdominal, que es desechada en el procesado industrial, constituiría una pérdida económica importante, y aunque fuese vendida, su valor no superaría el 50% del precio por kg pagado por el pollo en vivo. Si sumamos el resto de depósitos lipídicos que también pueden constituir material de desecho o subproductos en el despiece del pollo, se alcanza hasta un 4% de total de peso vivo. Tanto las mermas económicas, como la mayor aceptación de los productos con bajo contenido en grasa, por parte de los consumidores, hacen de interés la posibilidad de conseguir una reducción en la deposición de grasa corporal en el pollo de carne.

La cantidad de grasa corporal presenta una elevada heredabilidad en los pollos de carne (Cahaner, 1988). Por tanto, la selección genética en base a determinados parámetros indicativos del nivel de engrasamiento del animal, como puede ser el contenido en grasa abdominal o los niveles plasmáticos de lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL: Very Low Density Lipoprotein) (Hood, 1984; Whitehead, 1990), pueden derivar hacia animales con un menor grado de engrasamiento. Por otro lado, desde el punto de vista nutricional, es bien conocida la influencia que el tipo de alimentación puede ejercer sobre el metabolismo lipídico y el patrón de deposición de la grasa corporal. Hasta hace poco tiempo, los estudios realizados en pollos se han centrado en el nivel energético de la dieta, en el cociente energía:proteína (E:P) de la dieta (March y col., 1984; Donaldson, 1985; Moran, 1986; Sizemore y Siegel, 1993) y en el porcentaje de inclusión de grasa en la dieta (Deaton y col., 1981; Alao y Balnave, 1985; Deaton y Lott, 1985; Latour y col., 1994). Sin embargo, pocos estudios se centran en las características cualitativas de la grasa dietética y en el efecto que los diferentes tipos de grasa pueden ejercer sobre el engrasamiento del pollo (Sanz y col., 1999). Éste será el objetivo principal de la presente tesis doctoral.

SECCIÓN A: REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

1. INTRODUCCIÓN

La siguiente revisión bibliográfica se centrará principalmente en 3 aspectos del metabolismo lipídico en el pollo de carne. Se revisarán las características de deposición lipídica en el pollo, se tratarán los aspectos más relevantes del metabolismo lipídico del pollo de carne y en su regulación y por último, se discutirán diferentes factores que modifican la deposición de grasa en el broiler, tanto fisiológicos, genéticos y nutricionales, y los posibles mecanismos fisiológicos implicados en la modificación de dicha deposición.

2. DEPOSICIÓN DE GRASA EN POLLO DE CARNE

2.1. EL TEJIDO ADIPOSEO

El principal sitio de deposición de grasa en los animales es el tejido adiposo. Éste está constituido por adipocitos, los cuales presentan una gran vacuola central, donde se depositan los triglicéridos (TG) de reserva y que desplaza al resto de orgánulos celulares hacia la periferia. En el caso de las aves, la morfología de los adipocitos muestra una mayor especialización de este tejido para el almacenamiento de grasa, en comparación con los mamíferos. De hecho, el tejido adiposo de las aves, a diferencia que en mamíferos, tiene una capacidad de síntesis de ácidos grasos (AG) muy limitada, y la mayoría de grasa acumulada proviene directamente de la dieta o de la sintetizada en el hígado (Griffin y Hermier, 1988).

El crecimiento del tejido adiposo es el resultado, tanto de la hiperplasia como de la hipertrofia de los adipocitos. Desde el periodo embrionario hasta las 6 semanas de vida el crecimiento es debido principalmente a un incremento en el número de células (hiperplasia). La hipertrofia también está presente desde edad temprana y se mantiene hasta las 12-15 semanas de edad (Butterwith, 1988; Nir y col. 1988). Tanto el número de adipocitos como su tamaño pueden verse influenciados tanto por factores nutricionales como genéticos.

2.2. DISTRIBUCIÓN DEL TEJIDO ADIPOSEO EN AVES

Como se ha comentado anteriormente, la grasa corporal total del pollo constituye entre el 15-20% del total del peso vivo. Ésta se distribuye en el organismo formando depósitos lipídicos bien

diferenciados (como el abdominal, el de la molleja, el sartorial, el del cuello o el mesentérico) o bien, formando parte de otros tejidos (hígado, esqueleto, piel, plumas y resto de la carcasa). La contribución de cada uno de estos tejidos al contenido total de grasa corporal fue determinado por Cahaner y col. (1986) y se muestra en la Tabla 1.2. La grasa de la carcasa constituye aquella contenida en los músculos, intestinos, riñones, pulmones, tejido conjuntivo y otros depósitos lipídicos. Como se puede observar, esta fracción constituye el 40% de la grasa total, seguida de la grasa contenida en los 5 depósitos lipídicos diseccionados (abdominal, molleja, sartorial, cuello y mesenterio) y la piel. Cuantificando el porcentaje de grasa sobre el total que constituyen los depósitos lipídicos diferenciados que, en este estudio, forman parte de la fracción lipídica contenida en la carcasa (tejido adiposo del muslo, pechuga, pericardio, proventrículo, buche, Bolsa de Fabricio, perirrenal y espalda), se observa que pueden constituir hasta un 8% (Nir y col., 1988). Por tanto, el total de depósitos lipídicos diferenciados constituyen un 28% del total de la grasa corporal y un 6% del total del peso vivo.

Tabla 1.2: Contribución de los diferentes sitios de deposición de grasa al peso vivo y a la grasa corporal total del pollo Broiler.

Tejido*	Contribución al peso vivo (%)	Contribución a la grasa corporal total (%)
TA abdominal	1.67	
TA de la molleja	0.52	
TA sartorial	0.32	20
TA del cuello	0.70	
TA mesentérico	0.25	
Hígado	2.5	2.5
Plumas	4.5	
Piel	6.5	18
Esqueleto	20	15
Resto de carcasa	50	40

(Cahaner y col., 1986)

*TA: Tejido adiposo

2.3. CRECIMIENTO DE LOS DEPÓSITOS LIPÍDICOS EN POLLO DE CARNE

El crecimiento de los depósitos lipídicos es consecuencia del crecimiento corporal global o de un exceso en la ingestión de energía. Una vez satisfechas las necesidades de mantenimiento, crecimiento y actividad física, el exceso de energía será almacenado en forma de grasa en los depósitos lipídicos, con una gran eficiencia.

El crecimiento corporal siempre va acompañado del crecimiento de los depósitos lipídicos. Sin embargo, aunque el tamaño de éstos, así como el contenido en grasa corporal total presentan una correlación positiva con el peso vivo (Lin, 1981; Cahaner y col., 1986), los coeficientes de correlación son bastante bajos. De esto se deduce que el crecimiento relativo de los depósitos lipídicos está influenciado de forma importante por otros factores, además de por el crecimiento corporal global. Aunque en el primer periodo de crecimiento (hasta los 30 días de vida) la grasa abdominal crece a un ritmo similar al del resto del organismo, cuando el crecimiento corporal se enlentece, los depósitos lipídicos mantienen su velocidad de crecimiento, presentando un coeficiente de alometría global mayor que 1.

Como se ha comentado anteriormente, el crecimiento del tejido adiposo es debido tanto a la hiperplasia como a la hipertrofia. Cartwright (1991) observó que el aumento en el número de adipocitos está relacionado con el crecimiento corporal, mientras que la hipertrofia determina el estado de engrasamiento. Esto explicaría por qué durante el primer mes de vida el tejido adiposo abdominal crece al mismo ritmo que el resto del organismo. A partir de este periodo se reduce el ritmo de crecimiento corporal, lo cual irá acompañado de una disminución de la hiperplasia del tejido adiposo. Pero el exceso de energía consumido a partir de este momento, será depositado en los adipocitos, produciéndose una progresiva hipertrofia que se relacionará con la mayor velocidad de crecimiento de los depósitos lipídicos respecto al crecimiento corporal global y, por tanto, con el mayor engrasamiento.

En la Tabla 1.3, se presentan los coeficientes alométricos calculados por Cahaner y col. (1986), para diferentes depósitos lipídicos en diferentes líneas de pollos. Como se observa, el valor global de todos los depósitos lipídicos es siempre superior a 1, lo cual confirma la mayor velocidad de crecimiento de éstos respecto al crecimiento corporal. En todos los casos, el mayor coeficiente alométrico lo presentan la grasa mesentérica y la abdominal, lo cual indica un mayor crecimiento de estos depósitos al aumentar el peso corporal, y sugiere una tendencia de deposición de la grasa en estos depósitos abdominales. Por tanto, el depósito lipídico más indeseable es a su vez el que más se desarrolla, lo cual explicaría por qué se presenta como objetivo específico al intentar reducir el engrasamiento del pollo. Por otro lado, en el caso del depósito lipídico situado sobre el músculo sartorio, el coeficiente alométrico es inferior a 1, lo cual sugiere que, en este caso, un incremento en el peso vivo supondría una reducción relativa de este depósito lipídico.

Es por tanto evidente, que los depósitos lipídicos presentan diferentes patrones de crecimiento, y parece ser que pueden también ser afectados desigualmente por la selección genética, tal y como se comenta a continuación.

Teniendo en cuenta las 2 líneas estudiadas (grasas y magras) por Cahaner y col., (1986), se observa que existen diferencias importantes en la velocidad de deposición de los diferentes depósitos entre ambas líneas, de forma que en los pollos de líneas magras el crecimiento de los depósitos lipídicos es más lento que en las líneas grasas (Tabla 1.3). Esto podría ser debido tanto a una mayor eficiencia de deposición de tejidos magros, como a una peor eficiencia de deposición de grasa en las líneas magras. En estos mismos datos se observa cómo la reducción de la velocidad de crecimiento al pasar de una línea grasa a una magra es diferente según el depósito lipídico y según el sexo (Tabla 1.4). Mientras que el coeficiente alométrico de la grasa abdominal y mesentérica se reduce más de un 20 y 30%, respectivamente, en el caso de los machos, el de la grasa del músculo sartorio sólo se ve reducido en un 11%.

Por otro lado, se observa que el efecto de la línea genética es menos acusado en el caso de las hembras. Mientras que en machos se obtiene una reducción de casi un 30%, en las hembras es sólo de un 9%, e incluso, la grasa mesentérica llega a aumentar su coeficiente alométrico en la línea magra respecto a la línea grasa.

Respecto al efecto de la nutrición sobre el crecimiento de los depósitos lipídicos, es bastante clara la correlación positiva entre la ingestión de energía y el crecimiento de los depósitos lipídicos, principalmente el abdominal (Deaton y col., 1981; Jones y Wiseman, 1985; Pinchasov y Nir, 1992).

Tabla 1.3: Coeficientes de alometría de diferentes depósitos lipídicos en diferentes líneas de pollos

Tejido adiposo	Línea grasa		Línea magra	
	Machos	Hembras	Machos	Hembras
Abdominal	1.38	1.35	1.05	1.09
Molleja	1.21	1.14	0.80	0.97
Sartorial	0.69	0.9	0.61	0.88
Cuello	1.06	0.88	0.79	0.62
Mesentérico	3.06	2.39	2.05	2.48
TOTAL	1.48	1.33	1.06	1.21

(Cahaner y col., 1986)

Tabla 1.4: Porcentaje de reducción del coeficiente alométrico entre líneas grasas y magras.

Tejido adiposo	Machos	Hembras
Abdominal	23,9	19,3
Molleja	33,9	14,9
Sartorial	11,6	2,2
Cuello	25,5	29,6

Mesentérico	33,0	-3,8
TOTAL	28,4	9,0

(Calculado a partir de los datos de Cahaner y col., 1986)

2.2. ¿POR QUÉ LA SELECCIÓN GENÉTICA HA PRODUCIDO UN MAYOR ENGRASAMIENTO?

Uno de los factores más importantes que ha modificado la deposición de grasa en el pollo es la selección genética. El gran interés de las últimas décadas en aumentar la capacidad productiva y reducir los costes de producción, despertó el interés hacia una selección a favor de una mayor velocidad de crecimiento, mayor peso vivo o mayor consumo de alimento. Los resultados productivos fueron positivos, pasando de aproximadamente 500 g de peso vivo a unos 2.100 g a los 42 días de edad (Havenstein y col., 1994a). Sin embargo, como consecuencia directa, las líneas seleccionadas presentaron un incremento en la grasa corporal (Havenstein y col., 1994b).

El hecho de que el tejido adiposo sea el único con capacidad para almacenar energía, explicaría, en parte, por qué la selección hacia un mayor consumo de alimento ha producido un mayor engrasamiento. Y también lo explicaría en el resto de modelos de selección, ya que parece ser que la selección hacia un mayor peso vivo o mayor velocidad de crecimiento va acompañada de un aumento en el consumo de alimento. La ingestión excesiva de energía permitiría que una mayor proporción, respecto a la energía de mantenimiento, sea utilizada para el crecimiento tanto de los tejidos magros como los lipídicos. Tanto la deposición de proteína como la de glucógeno presentan un límite máximo, por tanto, una vez alcanzado éste, el exceso de energía será depositado en forma de grasa en el tejido adiposo, produciendo una hipertrofia de éste.

En el estudio de Cartwright y col. (1986) se observa como tanto la grasa abdominal como el peso vivo presentan un coeficiente de correlación positivo con el tamaño de los adipocitos, por lo que se deduce que el mayor engrasamiento de las estirpes de pollos seleccionados respecto a los no seleccionados se debe a una mayor hipertrofia de los adipocitos y no a un incremento en su número.

Sin embargo, la ingestión excesiva de alimento no es la única causa del mayor engrasamiento de las líneas seleccionadas. Existen diferentes factores metabólicos que se han visto modificados con la selección genética colaborando también en este incremento en la deposición de grasa. La grasa depositada en el tejido adiposo del pollo proviene de la dieta o de la síntesis endógena en el hígado y es transportada mediante lipoproteínas ricas en triglicéridos. La mayor secreción hepática de VLDL que presentan las líneas grasas (Leclercq y col., 1990) podría estar relacionada con la mayor deposición de grasa ya que ambos factores se correlacionan de forma importante (Griffin y col., 1982; Whitehead y Griffin, 1982).

Por otro lado, diferencias en la actividad del enzima *lipoproteinlipasa* (LPL), en la capacidad de movilización de grasa (Griffin y col., 1991) o en la sensibilidad o secreción de determinadas hormonas como la insulina, hormona del crecimiento u hormonas tiroideas (Dupont y col., 1999; Gabarrou y col., 2000; Leenstra y col., 1991) podrían también conducir a un mayor engrasamiento, como se verá más adelante.

3. METABOLISMO LIPÍDICO EN EL POLLO DE CARNE

3.1. DEFINICIÓN DE LÍPIDOS Y SU USO EN ALIMENTACIÓN ANIMAL

Dentro del término lípidos se incluye un grupo heterogéneo de sustancias cuya característica común es su solubilidad en disolventes orgánicos. Dentro de este grupo los ácidos grasos, triglicéridos, fosfolípidos, esteroides y vitaminas liposolubles son los más importantes, nutricionalmente hablando.

Los triglicéridos son ésteres de ácidos grasos con el glicerol y son la principal forma de almacenamiento de energía tanto en plantas como en animales, constituyendo el 90% de las grasas y aceites. Por tanto, son también un importante ingrediente energético para alimentación animal.

Las oleínas son subproductos obtenidos de los procesos de refinado de los aceites y grasas. Están constituidos por un 40-60% de ácidos grasos libres, con el mismo perfil que el aceite de origen. Constituyen también una importante fuente de energía para la formulación de piensos para alimentación animal.

3.2. DIGESTIÓN DE LOS LÍPIDOS

3.2.1. Emulsión y formación de micelas

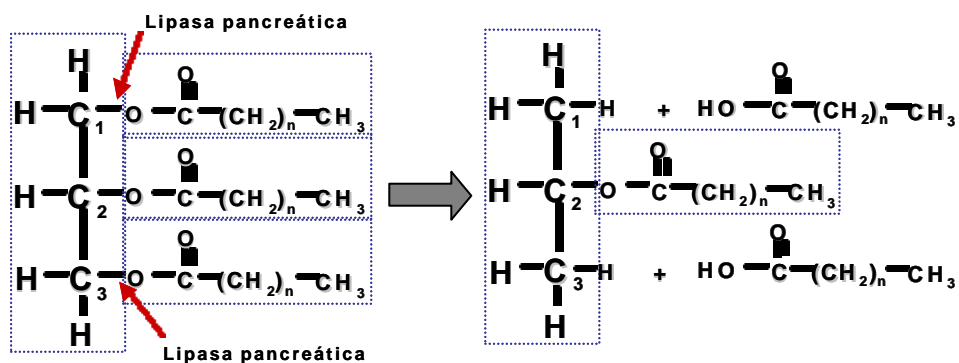
La grasa ingerida debe ser emulsionada en el estómago para permitir la acción de los enzimas pancreáticos y la formación de micelas en el contenido acuoso del intestino. Entre las sustancias emulsionantes que favorecen este proceso se encuentran los monoglicéridos obtenidos de la hidrólisis gástrica de las grasas, mediada por la *lipasa* gástrica, que hidroliza hasta un 30% de los lípidos de la dieta en mamíferos.

Un fallo en el proceso de emulsión de la grasa en el compartimento gástrico empeoraría de forma considerable la absorción de lípidos a nivel intestinal. Al contrario que en mamíferos, las aves presentan muy baja actividad lipolítica en el estómago por lo que la óptima emulsión de la grasa para la posterior formación de micelas y absorción de lípidos a nivel intestinal parece ser debida a la existencia del reflejo entero-gástrico. Mediante este mecanismo, parte de los triglicéridos hidrolizados en el duodeno vuelven nuevamente a la molleja, acompañados por parte de las sales biliares, donde intervendrán en la correcta emulsión de la grasa (Place, 1996).

La grasa emulsionada está formada por pequeños agregados esféricos de 200 a 5.000 nm de diámetro, constituidos por lípidos polares (fosfolípidos, glicolípidos y monoglicéridos). Gracias a la característica anfotérica de estos lípidos se pueden situar formando una monocapa en la interfase óleo-acuosa, dirigiendo su extremo polar hacia el agua y su extremo apolar hacia el resto de sustancias lipídicas. Dentro de estos agregados se engloban los lípidos menos polares (triglicéridos, esteroides, vitaminas liposolubles) y los totalmente apolares (como las ceras, ésteres de vitaminas o de esteroides). Las sales biliares entran en contacto con la grasa emulsionada disolviendo algunos de sus constituyentes y proporcionándole carga negativa. Es de vital importancia que las sales biliares se mantengan en solución a los niveles de pH que se dan en la molleja. Para ello se forman conjugados de las sales biliares con la taurina que permiten su disolución incluso a niveles de pH inferiores a 1.

Ya en el duodeno, la carga negativa proporcionada por las sales biliares atrae a la *colipasa* cuya función es la de mantener la *lipasa* pancreática cerca del glóbulo de grasa para permitir su acción. La *lipasa* pancreática hidroliza preferentemente los AG situados en los carbonos 1 y 3 del TG, dando lugar a 2-monoacilgliceroles y ácidos grasos libres, con carácter más polar (Figura 1.1). Se forman así partículas más pequeñas denominadas micelas cuyo diámetro aproximado es de 3-10 nm.

Figura 1.1: Acción de la lipasa pancreática:



Otros enzimas pancreáticos involucrados en la digestión de lípidos son las *fosfolipasas* A₁ y A₂ y la *carboxil-ester-hidrolasa*. Dichos enzimas catalizan la hidrólisis de los fosfolípidos (dando AG libres y lisofosfolípidos) y diferentes ésteres de AG, como los de colesterol.

Los derivados lipídicos más polares pasan a la fase acuosa del intestino y entran a formar parte de las micelas, junto con las sales biliares, englobando a otros lípidos no polares. El carácter hidrofílico de las micelas les permite atravesar la capa acuosa adyacente a la membrana celular y entrar en contacto con la membrana del enterocito para la absorción de los lípidos.

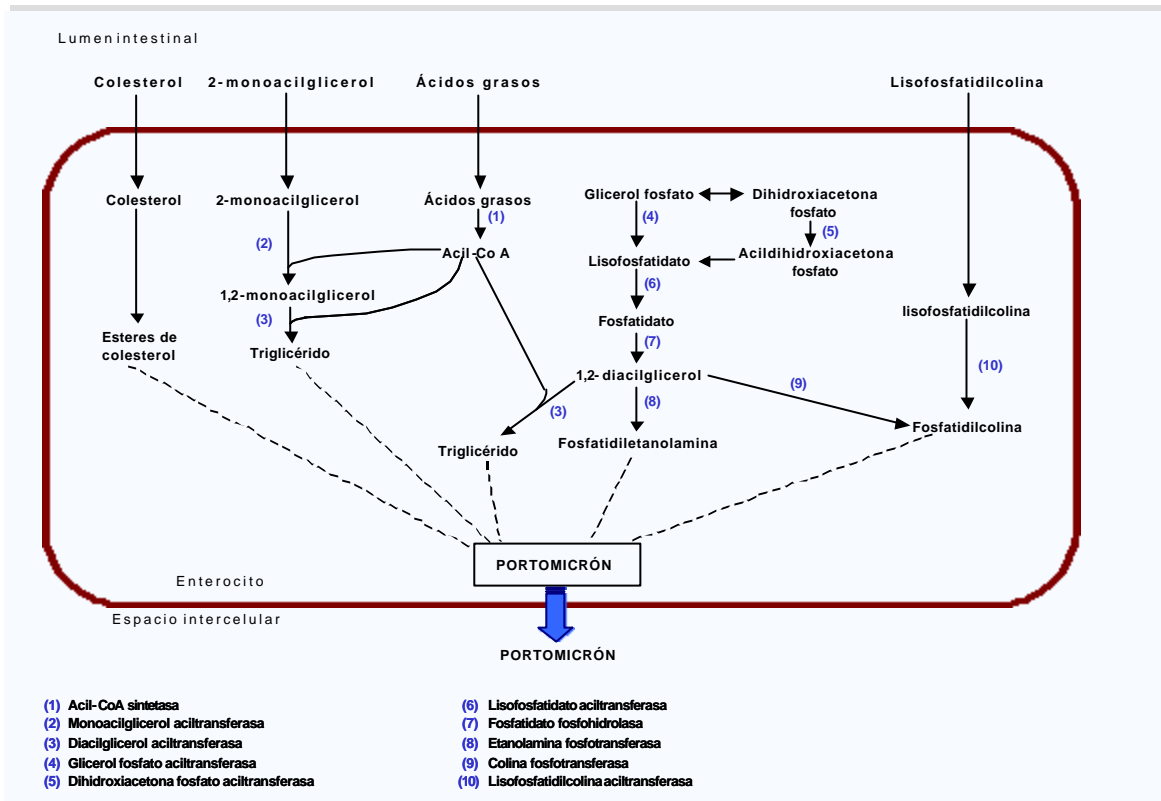
3.2.2. Absorción de lípidos:

El proceso de transporte de lípidos a través de la membrana de la célula intestinal se realiza mediante un proceso de difusión pasiva, principalmente a nivel del yeyuno. Existen diferentes factores que determinan el grado de absorción de las grasas:

- Ácidos grasos libres o monoglicéridos: Tras la hidrólisis de los TG se liberan AG libres (AGL) y monoglicéridos. Gracias a los 2 grupos hidroxilo de los monoglicéridos su grado de polaridad es mayor que el de los AG libres, lo cual favorece su absorción. Esto explica la menor digestibilidad de las oleínas respecto a las grasas o aceites.
- Grado de insaturación: Las proteínas transportadoras de ácidos grasos (FABP: Fatty Acid Binding Protein) tienen mayor afinidad por los AG poliinsaturados (AGPI) y éstos, además, tienen más capacidad para formar las micelas por lo que su grado de absorción es mayor respecto a los AG saturados (AGS).
- Longitud de cadena: a menor longitud de cadena del ácido graso mayor polaridad con relación al tamaño de la molécula, y por tanto, mayor capacidad de interacción con el medio acuoso. De hecho, los ácidos grasos de cadena media y corta no necesitan estar incorporados en las micelas para ser absorbidos, ni necesitan proteínas transportadoras citosólicas (FABP) ni las lipoproteínas plasmáticas, ya que son transportados unidos a la albúmina.
- Interacciones: La combinación de AGPI y AGS mejora la absorción de los últimos de forma que a partir de un 2% de aceite de soja sobre el total de grasa de la dieta, mejora la energía metabolizable del sebo, haciéndose máxima esta mejoría a partir de un 3% de inclusión de grasa en la dieta (Sibbald, 1978). La mayor facilidad de los AGPI para formar micelas mejora también la incorporación de los AGS a éstas, facilitando su absorción. Tal es dicho sinergismo que varios autores han establecido ecuaciones exponenciales que relacionan el grado de insaturación con la digestibilidad y el contenido en energía metabolizable de la dieta (Ketels y Groote, 1989; Wiseman y col., 1991). El mismo mecanismo se produce al combinar monoglicéridos con AGL (Sklan, 1979).

Dentro de la célula intestinal se vuelven a formar los triglicéridos, fosfolípidos y ésteres de colesterol que serán integrados en los portomicrones (PM) para su paso a la circulación portal. En la figura 1.2 se esquematizan estas vías de síntesis. Se ha de mencionar, que en el caso de las aves, la re-esterificación de los ácidos grasos absorbidos no es total y hasta un 50% pueden pasar directamente a la sangre y ser transportados por la albúmina (Griffin y Hermier, 1988).

Figura 1.2: Síntesis de lípidos en el enterocito y formación de portomicrones.



(Brindley, 1984)

3.3. METABOLISMO DE LAS LIPOPROTEÍNAS

Las lipoproteínas son complejos proteo-lipídicos que permiten el transporte de los lípidos a través de la sangre (Figura 1.3). Están compuestas por un núcleo hidrofóbico (lípidos no polares) y una capa externa de lípidos polares y apoproteínas. Según su contenido en triglicéridos y su densidad se diferencian 5 tipos de lipoproteínas en el pollo (Tabla 1.5).

Las apoproteínas, aparte de aportar carácter hidrofílico a las lipoproteínas, juegan un papel muy importante en el metabolismo y reconocimiento de estas macromoléculas por los tejidos corporales. Existen al menos 13 apoproteínas en mamíferos con diferentes funciones y aunque en pollos no están tan bien identificadas ejercen funciones similares (Tabla 1.6).

Tabla 1.5: Principales características de las lipoproteínas de pollos

	PM	VLDL	IDL	LDL	HDL
Densidad	< 1.013	< 1.013	1.013-1.023	1.023-1.046	1.052-1.130
Composición (%)					
Triglicéridos	88.8	59.3	16.3	7.9	2.5
Fosfolípidos	6.2	14.2	20.2	22.9	28.6

Colesterol	3.6	5.2	7.7	9.7	3.2
Ésteres de colesterol		11.1	30.9	32.5	22.5
Proteínas	1.4	11.3	25.4	26.8	43.2

PM: Portomicrones; VLDL: Lipoproteínas de muy baja densidad; IDL: Lipoproteínas de densidad intermedia; LDL: Lipoproteínas de baja densidad; HDL: Lipoproteínas de alta densidad.
(Griffin y Hermier, 1988)

Tabla 1.6: Apoproteínas en humanos y aves

Función	Humanos	Aves
Componente de lipoproteínas		
QM/PM	A-I, A-II, A-IV, C-II, E, B ₄₈	B, C-II
VLDL	A-I, A-II, B ₁₀₀ , C-II, D, E	A-I, B, C-II
LDL	B, C	A-I, B
HDL	A-I, A-II, C, D, E	A-I, C-II
IDL	E	A-I, B
Secreción de lipoproteínas	B ₄₈ , B ₁₀₀	B
Activación de enzimas		
LPL	C-II	C-II
LCAT	A-I, C-I, A-IV	A-I
LH	A-II	
Reconocimiento por receptores		
Receptor de LDL, IDL	B ₁₀₀ , E	A-I
Receptor de QM/PM remanentes	E	B
Receptor de HDL	A-I	A-I
Inhibición del reconocimiento por receptores	C-I, C-II, C-III, (A-II)	
Transferencia de lípidos	D	
Transporte inverso de colesterol	A-I, A-IV, E	

PM: Portomicrones; QM: Quilomicrones; VLDL: Lipoproteínas de muy baja densidad; IDL: Lipoproteínas de densidad intermedia; LDL: Lipoproteínas de baja densidad; HDL: Lipoproteínas de alta densidad; LPL: Lipoproteín lipasa; LCAT: Lecitín colesterol aciltransferasa; LH: Lipasa hepática
(Griffin y Hermier, 1988; Welch y Borlakoglu, 1992)

3.3.1. Metabolismo de los portomicrones

A diferencia de los quilomicrones (QM) de mamíferos, los portomicrones pasan a la circulación portal, por lo que son dirigidos directamente al hígado. Sin embargo, al igual que en mamíferos, la captación por parte del hígado no sucede hasta después de ser parcialmente metabolizados en los tejidos extrahepáticos, con un tiempo medio de circulación de 3-4 minutos (Griffin y Hermier, 1988).

Los portomicrones circulantes son sustrato del enzima LPL (activada por la Apo C-II). En este proceso se produce la hidrólisis de los triglicéridos y parte de los fosfolípidos, liberándose ácidos grasos que serán captados por los tejidos o transportados por el plasma unidos a la albúmina. El resto de fosfolípidos de los portomicrones junto con las Apo C, serán transferidos a las lipoproteínas de alta densidad (HDL: High Density Lipoprotein), quedando un portomicrón remanente rico en ésteres de colesterol que será captado por el tejido hepático (con receptores para la Apo B).

Como se verá más adelante, la LPL está regulada por diferentes hormonas y puede presentar variaciones en su actividad y en su afinidad por ciertos ácidos grasos.

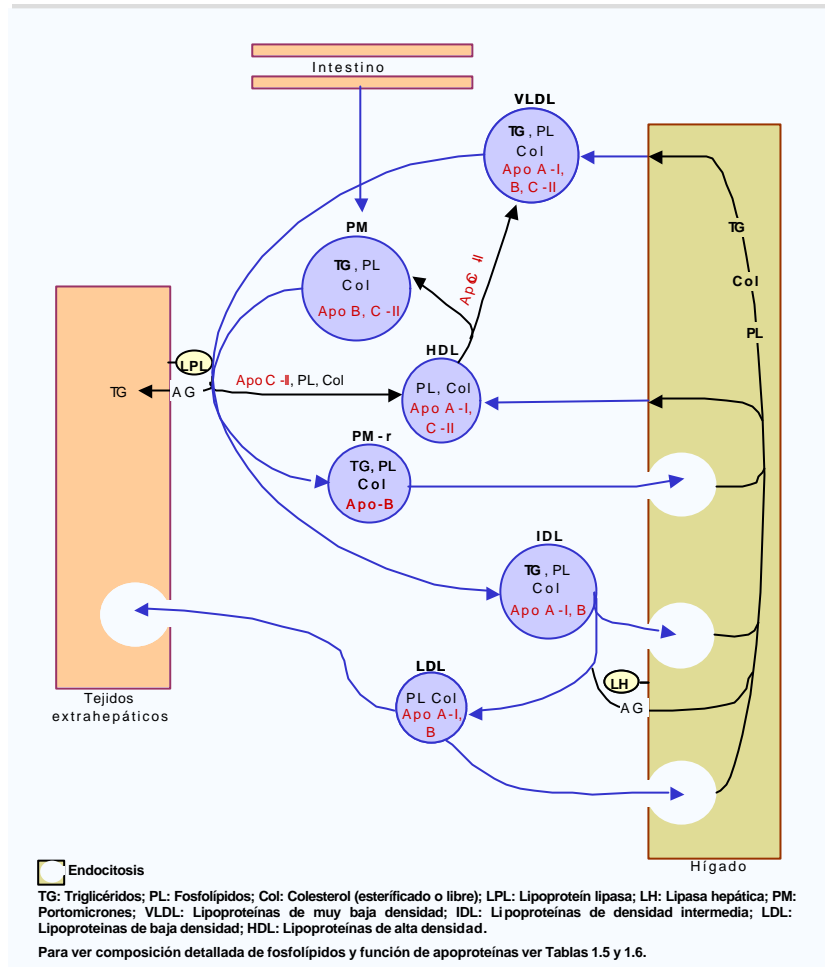
3.3.2. Metabolismo de las VLDL

Las VLDL son sintetizadas en el hígado y liberadas a la circulación conteniendo triglicéridos, colesterol, fosfolípidos y las correspondientes apoproteínas (Tabla 1.6). Como es bien sabido, en el pollo, el hígado es el principal sitio de síntesis de ácidos grasos (Fisher, 1984), por lo que la deposición corporal de grasa dependerá en gran medida de la secreción y los niveles plasmáticos de VLDL. De hecho, existe una clara correlación entre los niveles plasmáticos de VLDL y el engrasamiento corporal en el pollo siendo este parámetro bioquímico un factor de selección para las líneas grasas y magras de pollos, como se revisará más adelante.

En cuanto a la secreción de VLDL son menos conocidos los factores que regulan este proceso, sin embargo, parece ser que el enzima Δ -9 *desaturasa* juega un papel importante, tal y como demuestran los diferentes trabajos de Legrand (Legrand y col., 1987a; Legrand y Hermier, 1992; Legrand y Lemarchal, 1988, 1992; Legrand y col., 1997). El mecanismo por el cual este enzima favorece la secreción de VLDL no está muy claro, aunque se han considerado algunas hipótesis. El enzima Δ -9 *desaturasa* incorpora un doble enlace en el carbono 9 de los ácidos grasos, formando ácido oleico y palmitoleico a partir del esteárico y palmítico, respectivamente. La introducción de este doble enlace produce una disminución en el punto de fusión del ácido graso, lo cual favorecería su incorporación a las lipoproteínas. Por otro lado, también existe la posibilidad de que el ácido oleico impida la degradación intracelular de Apo B, apoproteína necesaria para la síntesis de VLDL (Dixon y col., 1991).

Al igual que los portomicrones, las VLDL son sustrato de la LPL. Una vez hidrolizados los TG, parte del colesterol, fosfolípidos y Apo-C son transferidos a las HDL. Las VLDL hidrolizadas pasan a formar las lipoproteínas de densidad intermedia (IDL: Intermediate Density Lipoprotein) y las lipoproteínas de baja densidad (LDL: Low Density Lipoprotein) con mayor densidad que las VLDL, debido a su mayor contenido proteico.

Figura 1.3: Metabolismo de las lipoproteínas en aves



3.3.3. Metabolismo de las IDL y LDL

Como se muestra en la Tabla 1.5 las IDL presentan mayor contenido en colesterol y ésteres de colesterol. Por su carencia en Apo-C, dejan de ser sustrato de la LPL, pudiendo ser captadas por el hígado o metabolizadas a LDL. La conversión de IDL a LDL parece ser mediada, al menos en mamíferos, por la *lipasa* hepática (LH), más que por la LPL (Welch y Borlakoglu, 1992), aunque parece ser que dicho enzima presenta una actividad inferior en las aves (Griffin y Hermier, 1988). En el proceso vuelven a hidrolizarse triglicéridos y fosfolípidos, quedando una partícula muy rica en colesterol.

Las LDL pueden ser captadas por gran variedad de tejidos, constituyendo una importante fuente de colesterol para la integridad de la membrana celular y la síntesis de hormonas esteroideas. La retirada de las IDL y LDL de la circulación es realizada por endocitosis mediada por receptor y posterior degradación en los lisosomas.

3.3.4. Metabolismo de las HDL

Las HDL pueden ser sintetizadas por el hígado o ser producto de la hidrólisis de lipoproteínas ricas en triglicéridos. Su composición se presenta en la Tabla 1.5. En mamíferos se han identificado diferentes formas de HDL (nascentes, HDL₁, HDL₂ y HDL₃) con diferente tamaño y composición (Welch y Borlakoglu, 1992). Sin embargo, hasta el momento en aves sólo se ha identificado una única forma (Griffin y Hermier, 1988). Actúan como vehículo de transporte del colesterol, tanto a los tejidos periféricos como hacia el hígado (transporte inverso de colesterol). En mamíferos, además, juegan un importante papel en el metabolismo de los QM y VLDL, ya que les transfieren las Apo C y E y capta el colesterol y fosfolípidos tras la hidrólisis de estas lipoproteínas. En aves las HDL parecen ser también el principal reservorio de la Apo-C.

En mamíferos, las HDL son el principal sustrato de la *lecitín-colesterol acil-transferasa* (LCAT) activada por la Apo-AI y que esterifica el colesterol con la lecitina haciéndolo pasar al centro de la lipoproteína (parte hidrofóbica) y permitiendo proseguir su captación. En aves, la Apo-AI está también presente en las VLDL, IDL y LDL, por lo que todas estas lipoproteínas son sustrato para la esterificación del colesterol (Griffin y Hermier, 1988).

3.4. LIPOPROTEINLIPASA

La LPL es el principal enzima responsable de la hidrólisis de triglicéridos contenidos en los PM o en las VLDL, liberándose ácidos grasos que serán captados por las células de los tejidos. En dicha hidrólisis la Apo C-II actúa como cofactor.

La LPL está presente en el tejido endotelial de los capilares de muchos tejidos, incluyendo el adiposo, cardíaco, pulmonar, muscular y renal. Es sintetizada por las células parenquimatosas de los tejidos donde se encuentra (adipocitos, miocitos, células musculares) localizándose en el aparato de Golgi desde donde es secretado hacia la membrana celular. La secreción se produce en 2 fases (Vannier y col., 1989), una primera correspondiente a la secreción del enzima pre-existente y que dura unos 40 minutos, y otra segunda más lenta que corresponde a la secreción del enzima que va siendo sintetizado. El enzima en las células parenquimatosas no es activo, y precisa de una glucosilación post-translacional (Ong y Kern, 1989) para ser activado, antes de ser exportado a las células endoteliales (Fielding y Frayn, 1998). Aquí se une al heparán sulfato quedando situada en la cara luminal del endotelio capilar.

El control de la secreción de la LPL se produce por diferentes hormonas incluyendo la insulina (principalmente), glucocorticoides, tiroxina y glucagón, y parece localizarse a diferentes niveles

incluyendo la transcripción, traslación y post-traslación (Bensadoun, 1991). Parece ser que en mamíferos existe una regulación tejido-específica ya que la actividad de dicho enzima es diferente según el tejido estudiado y el estado nutricional. Así, en estado de alimentación el tejido adiposo presenta mayor actividad de LPL que el tejido muscular o cardíaco, permitiendo el almacenamiento de energía, mientras que en estado de ayuno la situación se invierte y es el tejido muscular y cardíaco los que presentan más actividad ya que necesitan sustrato para ser oxidado (Fielding y Frayn, 1998). Sin embargo, la LPL de aves no parece estar tan influida por el estado nutricional observándose muy poca variación entre el estado de ayuno y de alimentación en el tejido adiposo, esquelético y cardíaco (Griffin y Hermier, 1988).

La función de la LPL hace pensar que es un enzima de gran importancia en la regulación de la deposición de lípidos en el tejido adiposo. Sin embargo, según los estudios en mamíferos, existe una regulación coordinada entre varios factores incluyendo a la LPL, la *lipasa* sensible a hormonas y la capacidad de esterificación de los adipocitos en cada momento. Mientras la capacidad de esterificación de TG en el tejido adiposo esté estimulada, tanto por la insulina como por la proteína estimuladora de la acilación, los ácidos grasos liberados por la acción de la LPL serán almacenados. Sin embargo, si la actividad de la LPL no se ve acompañada de una estimulación en la esterificación, los ácidos grasos liberados pasarán al torrente sanguíneo como ácidos grasos no esterificados (NEFA: Nonesterified Fatty Acids) unidos a la albúmina (Fielding y Frayn, 1998).

No obstante dichos estudios en mamíferos, en aves se relaciona a la LPL con el diferente engrasamiento entre estirpes de carne o de puesta (Griffin y col., 1987) y con el diferente crecimiento de los depósitos lipídicos (Butterwith, 1989), como se comentará más adelante. Sin embargo, al comparar líneas grasas y magras de pollos Broiler seleccionadas por los niveles de VLDL plasmáticos (Griffin y col., 1989), se observa la misma actividad LPL en el tejido adiposo de ambas líneas aunque exista mayor captación por parte del tejido adiposo abdominal de VLDL marcada con ^{14}C en las líneas grasas. Esto confirmaría los estudios realizados en mamíferos, según los cuales es necesaria la coordinación de diferentes factores para que la actividad LPL de un tejido vaya acompañada por la mayor captación de ácidos grasos por parte de éste.

En el mismo trabajo de Griffin y col. (1989), sí se observa una mayor actividad LPL en el músculo cardíaco y del muslo de los pollos de las líneas magras respecto a los pollos de las líneas grasas, lo cual se podría relacionar con un mayor uso de los TG por estos tejidos a expensas de una disminución de su deposición en el tejido adiposo.

Un factor a tener en cuenta es el efecto de la dieta sobre la actividad de la LPL. Según demuestran algunos estudios en ratas, la LPL de la grasa abdominal presenta mayor afinidad por los ácidos grasos saturados (Sato y col., 1999). Por otro lado, Montalto y Bensadoun (1993) demostraron un

efecto inhibitorio de la secreción de LPL tras la administración crónica de ácidos poliinsaturados (linoleico y eicosapentaenoico) a cultivos de adipocitos, respecto al control, mientras que no se observó ningún efecto con el ácido oleico.

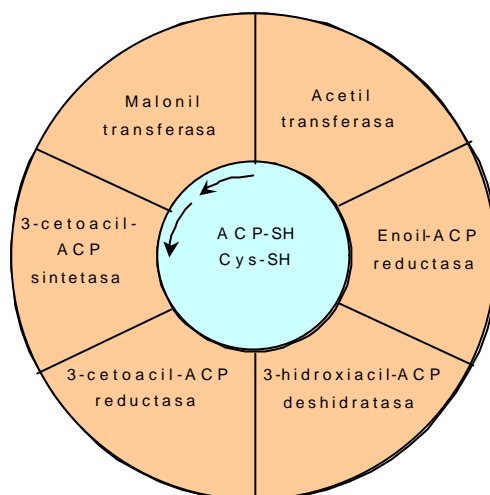
3.5. SÍNTESIS DE ÁCIDOS GRASOS

El elemento inicial para la síntesis de ácidos grasos es el Acetil-Coenzima A (Acetil-CoA), proveniente de la decarboxilación oxidativa del piruvato, del catabolismo de aminoácidos (principalmente glucogénicos: treonina, alanina y arginina) o de la degradación de ácidos grasos. Una vez presente el acetil-CoA en el citosol se suceden una serie de reacciones hasta la formación del ácido palmítico. Los cofactores necesarios para la síntesis de ácidos grasos son el NADPH (fosfato del dinucleótico de nicotinamida y adenina reducido), ATP (trifosfato de adenosina), Mn^{2+} , biotina y bicarbonato.

El paso de acetil-CoA a malonil-CoA es mediado por el enzima *acetil CoA carboxilasa* y biotina como coenzima. En dicha reacción se precisa de ATP y bicarbonato como fuente de CO_2 . Posteriormente se produce la elongación de la cadena carbonada al combinarse sucesivas veces el malonil-CoA con el acetil-CoA hasta la formación de ácido palmítico, mediante el complejo enzimático *ácido graso sintasa*.

El complejo enzimático *ácido graso sintasa* es un dímero, compuesto de 2 monómeros idénticos y que integra 7 sitios activos (Figura 1.4). La *proteína portadora del grupo acilo* (ACP: Acil Coupling Protein) se esterifica con los intermediarios acilados que intervienen en la síntesis de ácidos grasos. Parece ser que dicha proteína actúa de "brazo oscilante" para transportar los intermediarios acilados de un enzima a otro dentro del complejo enzimático. La *ácido graso sintasa* posee además 2 grupos sulfhidrilo esenciales que se cargan inicialmente con los grupos acilo del acetil-CoA y del malonil-CoA, mediante enzimas *transferasas* (Lehninger, 1988). Seguidamente se suceden 4 etapas en cada una de las cuales se produce la adición de una unidad de 2 carbonos al malonil-CoA, dando lugar finalmente al ácido palmítico.

Figura 1.4: Esquemización del complejo enzimático ácido graso sintasa



(Lehninger, 1988)

El acetil-CoA necesario para la síntesis de AG se encuentra en la mitocondria, mientras que la biosíntesis de ácidos grasos se produce en el citosol. Para el transporte de acetil-CoA a través de la membrana mitocondrial se combina con el oxalacetato para formar citrato, por la acción del enzima *citrato sintasa*. El citrato atraviesa la membrana mitocondrial y se combina con el CoA para volver a formar acetil-CoA y oxalacetato, mediante el enzima *citrato liasa*. El oxalacetato vuelve a la mitocondria transformándose primeramente en malato, mediante el enzima *malato deshidrogenasa*. El malato puede atravesar la membrana mitocondrial donde vuelve a oxidarse para dar oxalacetato, al integrarse en el ciclo del ácido cítrico, o puede ser sustrato del enzima málico para producir piruvato que también se integrará en el ciclo del ácido cítrico (Figura 1.5).

El NADPH es un coenzima necesario para la síntesis de ácidos grasos, ya que aporta el poder reductor necesario para reducir los enlaces dobles de los intermediarios de este proceso de biosíntesis. Existen diferentes enzimas generadoras de NADPH, de las cuales la *glucosa-6-fosfato deshidrogenasa* y la *6-fosfogluconato deshidrogenasa* (involucrados en la Vía de las Pentosas) son de gran importancia en mamíferos. En aves, sin embargo son el *enzima málico* y enzima *isocitrato deshidrogenasa* los principales suministradores de NADPH (Asante y Bulfield, 1988) (Figura 1.5).

Una vez sintetizado el ácido palmítico se produce la elongación de la cadena carbonada mediante la adición de malonil-CoA y mediante el enzima *ácido graso elongasa*. La desaturación es realizada por los enzimas *desaturasas* Δ^4 , Δ^5 , Δ^6 y Δ^9 , que añaden un doble enlace en los carbonos 4, 5, 6 y 9 del extremo carboxilo.

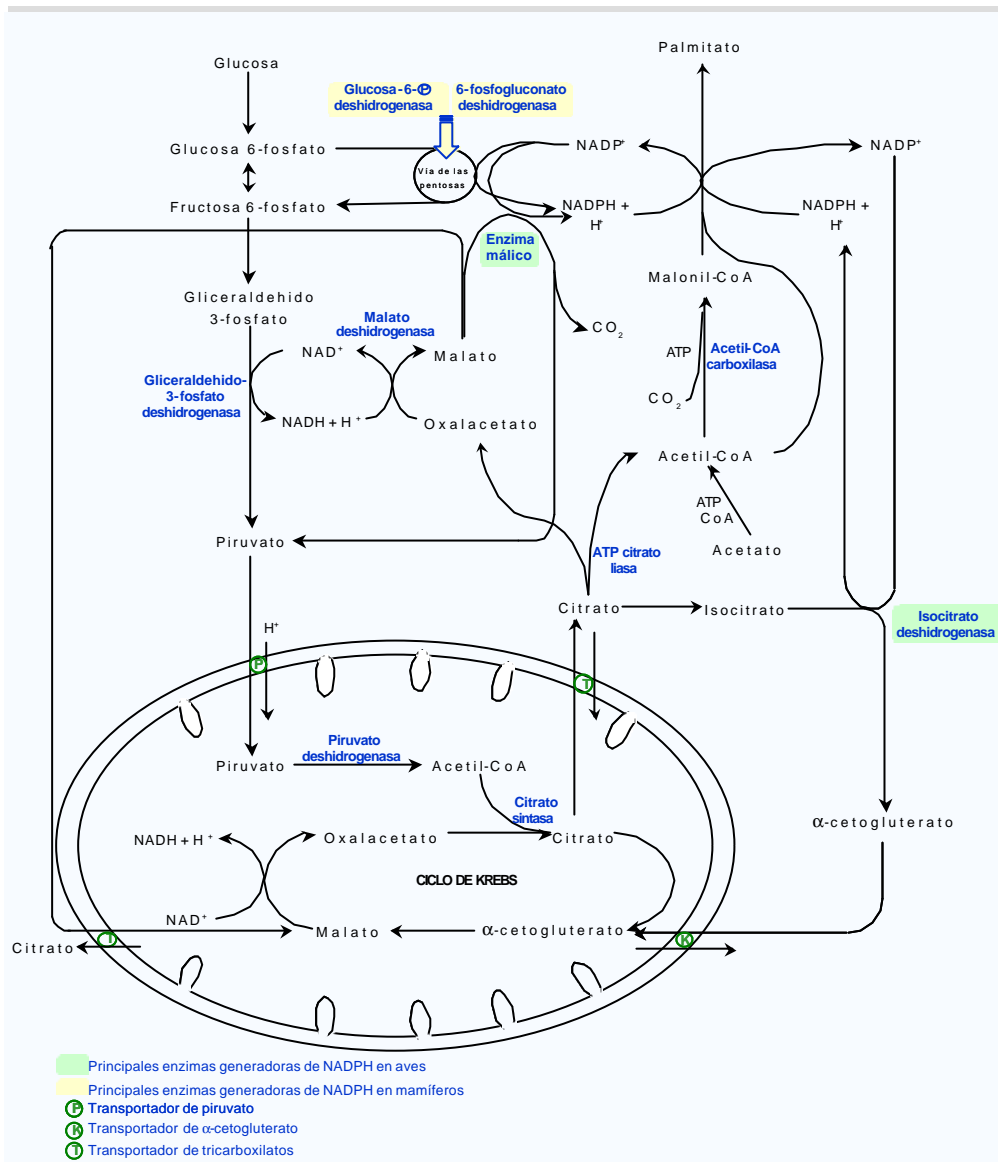
3.5.1. Regulación de la lipogénesis

La regulación de la lipogénesis se produce por la regulación de determinados enzimas lipogénicos. La *acetil-CoA carboxilasa* es un enzima alostérico (enzima regulador de una secuencia metabólica) que

se activa por el citrato (indicador del estado de acetil-CoA) y se inhibe reversiblemente por cadenas aciladas largas (por "feed-back" negativo del producto final de la reacción). Las cadenas acil-CoA inhiben también los transportadores tricarbónicos de la mitocondria, impidiendo la salida de citrato y por tanto evitando la activación de la *acetil-CoA carboxilasa* (Mayes, 1995). Aunque la *acetil-CoA carboxilasa* es un enzima limitante, no parece ser la única responsable del control de la lipogénesis.

El enzima *piruvato deshidrogenasa* que provee de acetil-CoA, también está implicado en la regulación de la lipogénesis ya que es inhibido por las cadenas acil-CoA, mediante la inhibición del transportador de intercambio ATP-ADP (difosfato de adenosina) de la membrana mitocondrial interna. De esta forma se produce un aumento de la relación $[ATP]/[ADP]$, lo cual produce el paso de enzima activo a inactivo. La oxidación de las cadenas acil-CoA también puede aumentar las relaciones $[acetil-CoA]/[CoA]$ y $[NADH]/[NAD^+]$ (Dinucleótido de nicotinamida y adenina reducido / dinucleótido de nicotinamida y adenina oxidado) en la mitocondria, inhibiendo igualmente a la *piruvato deshidrogenasa* (Mayes, 1995).

Figura 1.5: Suministro de Acetil-CoA y NADPH para la síntesis de ácidos grasos.



(Mayes, 1995)

El estado redox citoplasmático es también un factor regulador de la lipogénesis, ya que las relaciones $NADH:NAD^+$ y/o $NADPH:NAD^+$ (Fosfato del dinucleótido de nicotinamida y adenina reducido : fosfato del dinucleótido de nicotinamida y adenina oxidado), indican la disponibilidad de los equivalentes reductores necesarios para la lipogénesis. Una disminución de estas relaciones producirá una inhibición de la lipogénesis (Mayes, 1995). En este sentido, toman importancia los enzimas generadores de NADPH, comentadas anteriormente.

3.6. LIPÓLISIS Y OXIDACIÓN LIPÍDICA

La degradación de los ácidos grasos para la obtención de energía se inicia con la liberación de estos desde los adipocitos, mediante la lipólisis. La lipólisis hace referencia a la hidrólisis de los triglicéridos

para dar ácidos grasos y glicerol y está mediada por la *lipasa* sensible a hormonas que libera los ácidos grasos en posición 1 y 3 del TG, y la *monoacilglicerol lipasa* que libera el AG en posición 2 del triglicérido. El enzima regulador de este proceso es la *lipasa* sensible a hormonas.

Mientras que en mamíferos la adrenalina y noradrenalina son las principales hormonas estimuladoras de la *lipasa* sensible a hormonas, en aves es el glucagón el principal activador. La activación se produce por aumento del AMPc (monofosfato de adenosina cíclico) intracelular. Éste activa una proteína *quinasa* que produce la fosforilación del enzima *lipasa*, pasando a su forma activa (Langin y col., 1996).

Una vez liberados los ácidos grasos, estos son transportados por el plasma unidos a la albúmina y llegan a los diferentes tejidos donde se produce su oxidación. La β -oxidación de los AG se produce en la mitocondria. El transporte del AG al interior de la mitocondria se produce por un proceso en 3 etapas. Primeramente, se produce la esterificación del AG con el coenzima A, mediante el enzima *acil-CoA sintetasa* situada en la membrana mitocondrial externa. El enzima *carnitín aciltransferasa I*, situado en la membrana mitocondrial interna, cataliza la reacción de transporte del AG-CoA a través de la membrana mediante la esterificación de éste con la carnitina y liberación del CoA.

Seguidamente, la *carnitín aciltransferasa II*, situada en la superficie interna de la membrana mitocondrial interna, vuelve a transferir el AG desde la carnitina a la CoA de la matriz mitocondrial. El enzima *carnitín aciltransferasa I* es un enzima regulador del proceso, por lo que regula la velocidad de entrada del AG en la mitocondria y, por tanto, su oxidación.

La oxidación de los ácidos grasos saturados se produce por la eliminación repetida de fragmentos de 2 carbonos, mediante oxidación, que darán lugar a acetil-CoA. El proceso se sucede mediante etapas de deshidrogenación e hidratación. Las moléculas de acetil-CoA generadas entrarán en el ciclo del ácido cítrico o en el proceso de formación de cuerpos cetónicos. En el caso de los AG de número impar de carbonos, los últimos 3 carbonos de su cadena (propionil-CoA) son transformados, mediante una serie de reacciones, en succinil-CoA, que puede integrarse al ciclo del ácido cítrico. Para la oxidación de AG insaturados intervendrán también los enzimas *isomerasa* y *epimerasa*.

La regulación de la oxidación de los ácidos grasos se produce por su velocidad de penetración en la mitocondria. El enzima *carnitín aciltransferasa I* se inhibe específicamente por el malonil-CoA, primer intermediario en la síntesis de ácidos grasos. La concentración de malonil-CoA en la célula aumenta con dietas ricas en carbohidratos o con la insulina, (Saha y col., 1999), y disminuye con el ejercicio (Odland y col., 2000), o el ayuno (Drynan y col., 1996).

3.7. HORMONAS REGULADORAS DEL METABOLISMO LIPÍDICO EN AVES

3.7.1. Insulina

La insulina está compuesta por 2 cadenas aminoacídicas de 21 y 30 residuos y es secretada por las células beta pancreáticas. Se sintetiza en los ribosomas en forma de pre-prohormona insulínica, que seguidamente se segmenta para formar la proinsulina. La mayor parte de esta proinsulina vuelve a segmentarse en el Aparato de Golgi para dar la insulina, aunque parte es secretada como proinsulina, sin actividad biológica.

La insulina de pollo difiere de la de mamíferos en algunos residuos situados en posición 8, 9 y 10 de la cadena A y 1, 2 y 27 de la cadena B. Estos mínimos cambios le dan diferentes propiedades inmunológicas y mayor potencia biológica respecto a la insulina de mamíferos, que podría ser consecuencia de su mayor afinidad por los receptores celulares de insulina (Simon, 1988). Sin embargo, el número de receptores de insulina en el tejido hepático de pollos en crecimiento es inferior a los de mamíferos, lo cual podría explicar los altos niveles de glucosa en el plasma de pollo y la resistencia a la insulina exógena.

La secreción de insulina está regulada por diferentes metabolitos y hormonas. La glucosa ejerce un efecto directo sobre las células beta produciendo un aumento en la secreción de insulina. El aumento de la concentración de aminoácidos en sangre (especialmente de la arginina, leucina o alanina) o de los β -cetoácidos también aumentan su secreción. Algunas hormonas intestinales como la secretina, la gastrina y el péptido gástrico inhibidor, tienen función estimuladora de la secreción de insulina. Por otro lado, los estímulos que producen un aumento en el AMPc de las células beta, como los agonistas β -adrenérgicos o glucagón, también estimulan la secreción de insulina, probablemente, aumentando el Ca^{2+} intracelular (Ganong, 1988).

Los receptores de la insulina están constituidos por 2 subunidades α y 2 β . La insulina se une a las subunidades α y causa la autofosforilación de las subunidades β , convirtiéndose en un enzima *quinasa* que fosforila determinados enzimas citosólicos.

3.7.1.1. Efecto de la insulina sobre el metabolismo de carbohidratos

Al igual que en mamíferos, la insulina en aves produce un efecto hipoglucémico, aunque las dosis necesarias para tal efecto son bastante más elevadas que las requeridas en mamíferos, y el efecto es mucho más pronunciado en estado de ayuno que en estado de consumo (Simon, 1988).

A nivel hepático la insulina inhibe la glucógenolisis. Produce la inhibición del enzima *fosforilasa hepática*, que causa el desdoblamiento de glucógeno en glucosa; aumenta la captación de glucosa por la estimulación de la *glucoquinasa*, que fosforila la glucosa para difundir al interior de las células hepáticas; y estimula la síntesis de glucógeno, activando la *fosfofructoquinasa* que causa la segunda fosforilación de la glucosa, y la *glucógeno sintetasa*.

En las células musculares y adiposas, la insulina estimula el transporte de glucosa a través de la membrana celular, aunque la magnitud de respuesta en el tejido adiposo de aves es bastante baja (Simon, 1988).

3.7.1.2. Efecto de la insulina sobre el metabolismo lipídico

El principal papel de la insulina sobre el metabolismo lipídico es su efecto lipogénico. En estudios realizados *in vivo* la insulina exógena aumentó la incorporación de ^{14}C en los extractos lipídicos obtenidos del hígado, tejidos adiposo y muscular. Dicho efecto parece ser mediado por la estimulación de los enzimas lipogénicos (Simon, 1988).

Por otro lado, la insulina incrementa la captación de los TG de las VLDL por parte de los adipocitos, debido a un aumento en la actividad de la LPL. La insulina es el principal regulador de la LPL en humanos y ratas y es muy bien conocido su mecanismo de acción (Semenkovichs y col., 1989; Knutson, 2000). Sin embargo, existen pocos estudios que demuestren este efecto en aves. Borron y col. (1979) observó que la insulina estimulaba la actividad de la LPL en cultivos de adipocitos, aunque la dosis necesaria fue bastante elevada.

En humanos, la insulina inhibe la acción de la *lipasa sensible a hormonas*, evitando de esta forma la lipólisis. Sin embargo, no se ha encontrado efecto antilipolítico de la insulina en los adipocitos de pollos (Simon, 1988).

3.7.2. Glucagón

El glucagón es sintetizado por las células alfa del páncreas. Su secreción se ve regulada principalmente por la concentración sanguínea de glucosa, aunque parece estar mediada por la insulina, ya que la glucosa sólo bloquea su secreción en presencia de ésta (Ganong, 1988; Mialhe y col., 1988). La insulina, somatostatina, secretina, AGL, cetonas y estimulantes α -adrenérgicos también inhiben la secreción de glucagón, mientras que los aminoácidos en sangre (particularmente los glucogénicos), la gastrina, el cortisol, el ejercicio y los agonistas β -adrenérgicos la estimulan (Ganong, 1988).

La principal función del glucagón es mantener los niveles adecuados de glucosa en sangre. Para ello estimula la glucogenolisis y la gluconeogénesis. Además, ejerce un efecto lipolítico y cetogénico, siendo el principal estimulador de la lipólisis en aves (Butterwith, 1988), a diferencia que en mamíferos en los cuales la adrenalina y noradrenalina son las principales hormonas que estimulan la lipólisis.

4. FACTORES QUE AFECTAN A LA DEPOSICIÓN DE GRASA EN EL POLLO

Los factores que modifican la deposición de grasa en el pollo son principalmente la selección genética, el sexo, los factores ambientales y los nutricionales.

4.1. MODIFICACIÓN DE LA DEPOSICIÓN DE GRASA MEDIANTE SELECCIÓN GENÉTICA

Numerosos estudios han demostrado la elevada heredabilidad que presenta la deposición de grasa en el pollo (Tabla 1.7). Gracias a esto es posible modificar de forma importante los patrones de deposición de grasa a lo largo de sucesivas generaciones.

Tabla 1.7: Valores de heredabilidad del engrasamiento del pollo de carne.

Autor	Parámetro	Heredabilidad (h^2)
Leclercq y col. (1980)	Grasa abdominal (g)	1,06
	Grasa abd. / peso vivo	0,98
Cahaner y Nitsan (1985)	Grasa abd. / peso vivo	0,78 (hembras)
		0,55 (W. Rock)
Leenstra y Pit (1988)	Grasa abdominal (%)	0,92 (Cornish)
	Peso vivo / grasa abd.	0,53
		0,58

Los parámetros de selección que han mostrado más éxito en la reducción de grasa en el pollo son el índice de conversión y la grasa abdominal. La selección genética en base a la grasa abdominal puede realizarse mediante métodos no agresivos (calibrador abdominal) o de forma indirecta mediante la determinación de parámetros bioquímicos correlacionados con la deposición de grasa (VLDL, triglicéridos sanguíneos o glucemia).

4.1.1. Selección genética hacia un mejor índice de conversión.

Este método de selección se basa en el diferente coste de deposición de un gramo de tejido adiposo y un gramo de tejido no adiposo. Por su mayor valor calórico, el coste de deposición de un gramo de tejido lipídico es hasta 4 veces superior al del tejido magro, por lo que la ingestión del alimento necesario para incrementar un gramo de peso vivo sería inferior para las líneas magras.

La selección hacia un mejor índice de conversión reduce la deposición de grasa, respecto a los pollos seleccionados para una mayor velocidad de crecimiento o un mayor consumo de alimento (Pym y Solvyns, 1979; Leenstra, 1988; Leenstra y Pit, 1988; Sorensen, 1988). Aunque existen algunas diferencias en la ingestión de energía entre pollos sometidos a estos diferentes parámetros de selección, éstas no explicarían, exclusivamente, el diferente engrasamiento (Buyse y col., 1998), por

lo que otros factores metabólicos deben estar implicados. Parece ser que el principal factor que diferencia la línea de selección hacia un mejor índice de conversión se encuentra en el diferente reparto de la energía retenida, entre deposición de grasa y deposición de proteína.

Pym y col. (1984) observaron un aumento en la retención de nitrógeno consecuencia de un recambio proteico más reducido en los pollos seleccionados para un mejor IC, lo cual produciría un incremento en la deposición de tejido magro respecto a las otras líneas de selección (por velocidad de crecimiento o consumo de alimento) (Pym y Solvyns, 1979).

Más recientemente, en el estudio de Buyse y col. (1998), se observa que, tanto las necesidades de mantenimiento como la producción de calor y cociente de respiración son similares entre las líneas seleccionadas para un mayor peso vivo y un mejor índice de conversión. La eficiencia de retención de energía fue, por tanto, la misma entre ambas líneas. Sin embargo, una mayor proporción de esta energía retenida fue depositada en forma de grasa en los pollos seleccionados para un mayor crecimiento, lo cual produjo un aumento en la relación corporal de grasa y proteína. De la misma forma, la eficiencia de deposición de proteína fue mayor para las líneas con mejor IC.

Según Leenstra y col. (1991) estas diferencias metabólicas entre las diferentes líneas de selección podrían estar relacionadas con un diferente patrón de secreción de la hormona de crecimiento u hormonas tiroideas.

Sin embargo, en todos estos trabajos se observa que la selección hacia un mejor índice de conversión produce simultáneamente una reducción en el peso vivo. Es por ello que algunos autores (Pym y Nicholls, 1979; Leenstra, 1988) recomiendan la selección conjunta del índice de conversión y el peso vivo o el porcentaje de grasa abdominal.

4.1.2. Selección genética hacia un menor contenido de grasa abdominal

La grasa abdominal se considera el depósito lipídico más importante del pollo, por sus implicaciones en el procesado industrial, por su magnitud y por su facilidad de identificación y aislamiento. Además de estas características anatómicas, la grasa abdominal presenta una importante correlación con el resto de grasa corporal (Pfaff y Austic, 1976; Whitehead y Griffin, 1984) por lo que, los métodos de selección de líneas magras se basan principalmente en la reducción de este depósito. Así, la medición directa de grasa abdominal en las líneas progenitoras se presenta como un buen método de

selección, desarrollado por Leclercq (Leclercq y col., 1980, Leclercq, 1988). Sin embargo, el método de determinación de la grasa abdominal puede presentar algunos inconvenientes.

Griffin y col. (1982) demostraron la relación entre los niveles plasmáticos de VLDL y el contenido en grasa corporal. El principal sitio de lipogénesis en el pollo es el hígado donde se sintetiza y secreta VLDL, que será posteriormente captado por los tejidos periféricos. Por tanto, un aumento en la concentración de VLDL debe estar íntimamente relacionado con un incremento en la deposición de grasa.

El alto coeficiente de correlación con la grasa abdominal, así como el desarrollo de técnicas de análisis sencillas (Griffin y Whitehead, 1982) han permitido utilizar este parámetro como criterio indirecto de selección de líneas grasas y magras, presentando la ventaja de no ser necesario el sacrificio del ave. Grunder y Chambers (1988) demostraron que la selección de líneas magras utilizando los niveles plasmáticos de VLDL era más eficaz que otros parámetros relacionados con la deposición de grasa en el pollo (LPL) y se presentaba tan efectiva como la selección directa para un menor contenido de grasa abdominal.

Whitehead y Griffin (1984) estudiaron el efecto de dicha selección durante 3 generaciones. Los cambios en la concentración de VLDL, grasa abdominal y grasa y proteína corporales fueron significativos desde la primera generación seleccionada, tanto en hembras como en machos, manteniéndose un mismo peso vivo entre ambas líneas. La línea magra presentó menor concentración de VLDL plasmática y un porcentaje de grasa abdominal y corporal un 49 y 34% inferior a la línea grasa, respectivamente. La deposición de proteína se incrementó y el índice de conversión mejoró en la línea magra.

En la experiencia durante 8 generaciones (Whitehead, 1990), los efectos de la selección se repitieron y la divergencia entre ambas líneas fue aumentando a lo largo de las sucesivas generaciones. Whitehead (1990) observó que la divergencia en la concentración de VLDL era debida a un incremento de esta lipoproteína en la línea grasa, respecto a una línea control, mientras que la reducción de la concentración en VLDL en la línea magra respecto a la control fue menos acusada. Sin embargo, la grasa abdominal en esta línea sí continuó disminuyendo en sucesivas generaciones, respecto a la estirpe comercial utilizada como control. Este hecho podría ser explicado por el balance de secreción y captación de VLDL por el hígado y los tejidos, respectivamente. En las líneas magras la menor secreción hepática de VLDL (Legrand y col., 1987b) podría verse compensada por una menor captación de los tejidos periféricos, lo cual permitiría una menor deposición de grasa.

4.1.3. Diferencias metabólicas entre las líneas grasas y magras de pollos

Los mecanismos mediante los cuales se produce esta diferenciación en la deposición de grasa entre diferentes líneas de pollos seleccionados genéticamente, han sido objeto de estudio de diferentes autores.

Los principales mecanismos fisiológicos que podrían ser modificados mediante la selección genética son los siguientes:

- ***Mayor capacidad de deposición de lípidos en el tejido adiposo de las líneas grasas***

- *Mayor actividad LPL en el tejido adiposo*

Para que se produzca una mayor deposición de grasa en el tejido adiposo ha de verse incrementada, primeramente, la secreción de VLDL, lo cual ha sido claramente demostrado (Griffin y col., 1982). Seguidamente, para que el aumento de secreción de VLDL en las líneas grasas produzca un aumento en la deposición de grasa se ha de producir, simultáneamente un aumento de su captación, por parte de los tejidos.

La LPL es el enzima encargado de hidrolizar los triglicéridos de las lipoproteínas plasmáticas, permitiendo la entrada de ácidos grasos a las células. Por tanto, un aumento en la deposición de grasa, debería ir acompañado de un aumento de la actividad de este enzima. Hermier y col. (1989) encontraron una mayor actividad LPL en el tejido adiposo abdominal de las líneas grasas, sin embargo, al compararla por unidad celular las diferencias no fueron significativas. Esto se repite en el estudio de Leclercq y col. (1990), en el cual los pollos pertenecientes a líneas grasas, presentaron una mayor secreción de VLDL y una mayor captación de estas lipoproteínas, principalmente a nivel abdominal, que los pollos pertenecientes a las líneas magras. Sin embargo, no se encontraron diferencias entre líneas ni en la afinidad, ni en la actividad de este enzima.

Por tanto, la mayor actividad LPL es debida al mayor número de adipocitos presentes en el tejido adiposo de las líneas grasas, respecto a las magras, y no a una mayor actividad del enzima en sí o por unidad celular.

Se ha de mencionar, no obstante, que la actividad LPL puede variar en diferentes tejidos y que sí parecen existir diferencias entre líneas en la actividad LPL del tejido muscular. Así, algunos autores (Griffin y col., 1989; Hermier y col., 1989) encontraron mayor actividad en el músculo cardíaco y otros tejidos musculares en las líneas magras, respecto a las grasas, lo cual implicaría un uso preferente

de VLDL por estos tejidos y una menor disponibilidad de triglicéridos para su depósito en los tejidos adiposos de esta línea.

- ***Diferencias en la actividad lipogénica***

La mayor concentración de VLDL observada en las líneas grasas hace pensar en una mayor actividad lipogénica, por lo que son numerosos los estudios que determinan la actividad de diferentes enzimas implicados en la lipogénesis.

- *Actividad de enzimas productoras de NADPH.*

Respecto a los enzimas generadores de NADPH (necesario como factor reductor en la síntesis de lípidos), Asante y Bulfield (1988) observaron mayor actividad de los enzimas *6-fosfato deshidrogenasa*, *6-fosfogluconato deshidrogenasa*, *isocitrato deshidrogenasa* y *enzima málico* en las líneas grasas. En todos los casos, la actividad del *enzima málico* e *isocitrato deshidrogenasa* fue superior a la actividad de los enzimas involucrados en la vía de las pentosas fosfato, demostrando la mayor importancia de estos enzimas como generadoras de NADPH en el pollo. Sin embargo, Legrand y col. (1987a) no encontró diferencias significativas en la actividad del *enzima málico*, entre ambas líneas de pollos.

- *Actividad Δ-9 desaturasa.*

El enzima Δ-9 *desaturasa* está relacionado con la incorporación de ácidos grasos a los lípidos hepáticos. En varios estudios (Legrand y col., 1987a; Legrand y Lemarchal, 1988) se encontró mayor actividad de este enzima en las líneas grasas, aumentando en el peor de los casos un 45%, respecto a las líneas magras. Esto produciría un aumento en la concentración de VLDL que, al estar directamente relacionado con la deposición de grasa abdominal (Griffin y col., 1982), explicaría la mayor deposición de grasa abdominal. De hecho, Legrand y col. (1987a) encontraron una clara relación entre la actividad Δ-9 *desaturasa* y la deposición de grasa abdominal.

- *Mayor actividad Acetil Co-A carboxilasa.*

La actividad de este enzima, considerado limitante para la síntesis de lípidos en aves, fue estudiada por Legrand y col. (1987a) entre líneas magras y grasas. Aunque las líneas grasas presentaron una actividad hasta un 25% superior a las líneas magras, las diferencias no fueron significativas, por lo

que los autores sugieren que el diferente engrasamiento entre ambas líneas se debe principalmente a la mayor secreción hepática de VLDL. La misma síntesis lipídica pero una diferente secreción de VLDL entre líneas hace pensar en un uso diferente de los lípidos sintetizados en las líneas magras.

- Determinación de la lipogénesis in vivo.

Existen varios estudios en los cuales se determina la actividad lipogénica *in vivo* de las líneas grasas y magras, utilizando agua tritiada ($^3\text{H}_2\text{O}$) (Griffin y col., 1992; Saadoun y Leclercq, 1987) o acetato marcado radiactivamente (^{14}C) (Legrand y col., 1987b). En ellos se determina la incorporación de (tritio) ^3H o ^{14}C , respectivamente, en los lípidos de diferentes tejidos. Mientras que el acetato ^{14}C se incorpora al acetil-coenzima A citosólica, principal precursor de la síntesis de lípidos, el $^3\text{H}_2\text{O}$ sirve como donador de ^3H en los pasos siguientes de la lipogénesis, por tanto, este último marcador no diferenciará entre la síntesis *de novo* y la elongación directa de los ácidos grasos exógenos.

De todos estos estudios se deduce que, al parecer, no es tan acusada la diferente lipogénesis entre líneas magras y grasas de pollos. Saadoun y Leclercq (1987) encontraron mayor incorporación de ^3H en los lípidos de las líneas grasas, sugiriendo una mayor lipogénesis. Sin embargo, estas diferencias no fueron significativas. Legrand y col. (1987b) encontraron mayor incorporación de ^{14}C en los lípidos plasmáticos y del tejido adiposo de las líneas grasas, entre los 30 minutos y 1 hora, y las 5 y 12 horas, respectivamente, tras la inyección de acetato ^{14}C . Sin embargo, en los lípidos hepáticos fue la línea magra la que presentó mayor incorporación, aunque únicamente a los 30 minutos tras la administración de acetato ^{14}C .

Teniendo en cuenta que la actividad Δ^9 desaturasa es mayor en las líneas grasas (Legrand y col., 1987a; Legrand y Lemarchal, 1988) y que se acompaña de una mayor secreción hepática de VLDL (Leclercq y col. 1990), se podría considerar que el mayor marcaje de los lípidos hepáticos de la línea magra y el menor en los lípidos sanguíneos se debe a una menor secreción de VLDL y, por tanto, una lipogénesis hepática incrementada en las líneas grasas pasaría desapercibida. Sin embargo, los autores concluyen que no existen diferencias en la lipogénesis de ambas líneas y sugieren que, en el caso de las líneas magras, los lípidos sintetizados *de novo* deben dirigirse hacia otros procesos metabólicos en preferencia a su deposición. De hecho, en este mismo estudio se determinó la radiactividad específica del CO_2 espirado, encontrando un marcaje mayor en el CO_2 de las líneas magras. Aunque este CO_2 podría proceder de la oxidación directa del acetato ^{14}C en el ciclo de Krebs, también podría indicar una mayor α -oxidación de los lípidos en las líneas magras.

• **Diferencias metabólicas**

- Diferencias en el metabolismo energético

La diferente deposición de lípidos entre líneas magras y grasas puede ser consecuencia de un diferente balance energético.

Por un lado, podría producirse una disminución del gasto energético de los pollos de las líneas grasas, consecuencia de una disminución en las necesidades de mantenimiento o en la termogénesis. De esta forma, aumentaría la energía disponible para la deposición de lípidos, una vez alcanzado el máximo de deposición de proteína. Otra posibilidad sería un diferente reparto de la energía metabolizable entre la deposición de lípidos y de proteína.

En los estudios de diferentes autores (Leclercq y Saadoun, 1982; Geraert y col., 1988; MacLeod y col., 1988; Geraert y col., 1990) no se han observado diferencias en el consumo de alimento, la energía metabolizable, las necesidades energéticas de mantenimiento ni la termogénesis inducida por el consumo. No obstante, las diferencias en la deposición de grasa y proteína son evidentes en todos los casos (Tabla 1.8).

Tabla 1.8: Cambios en la retención de grasa y proteína en líneas de pollos grasas y magras.

	<i>Línea</i>	<i>Consumo (g/d)</i>	<i>Energía metabolizable</i>	<i>Retención lípidos</i>	<i>Retención de proteína</i>
Leclercq y Saadoun, 1982 (35-49 d)	G	115	2.97 (Kcal/g)	132 (g)	
	M	114	2.93 (Kcal/g)	113 (g)	
MacLeod y col., 1988 (10 sem.)	G	157	1965 (KJ/d)	582 (KJ/d)	216 (KJ/d)
	M	153	1971(KJ/d)	497 (KJ/d)	280 (KJ/d)
Geraert y col., 1988 (5 sem.)	G	96	1288 (KJ/d)		1.27 (g N/d)
	M	95	1351 (KJ/d)		1.46 (g N/d)

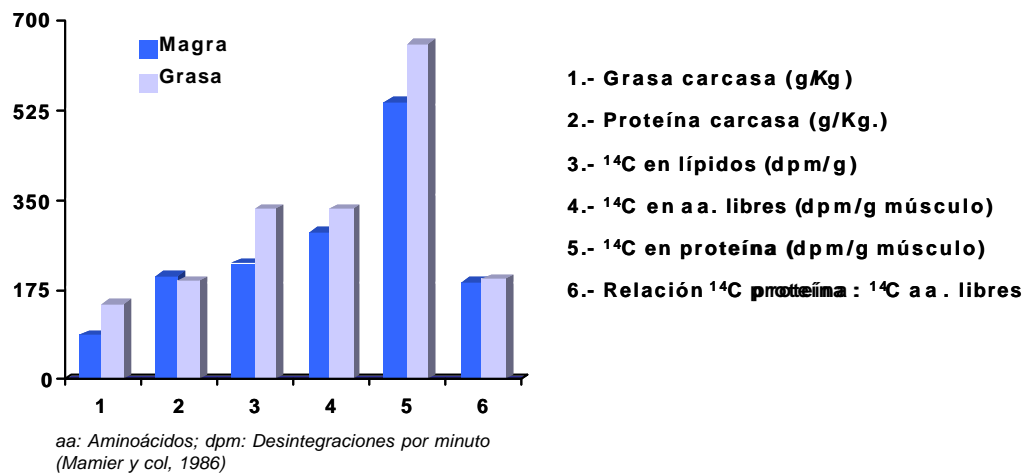
g/d: gramos por día

Con una misma eficiencia energética de la ración (Geraert y col., 1990) la diferente composición corporal entre líneas se explicaría por una derivación de la energía hacia la deposición de lípidos en las estirpes grasas. En los estudios de Geraert y col. (1988,1990) se observa un aumento en la excreción de ácido úrico en las líneas grasas, lo cual se relaciona con un mayor catabolismo de los aminoácidos. Un nivel de lipogénesis mayor incrementaría la demanda de acetil CoA, necesario para la síntesis de ácidos grasos (Saunderson, 1988), el cual provendría del catabolismo de todos los precursores, incluyendo los aminoácidos.

Tal y como se muestra en la Figura 1.6 (Mamier y col, 1986), la incorporación en el tejido adiposo de ¹⁴C proveniente de leucina marcada radiactivamente en la dieta, es mayor para la línea grasa, lo que confirma la implicación de los aminoácidos en la síntesis de lípidos. Aunque la relación de incorporación de ¹⁴C en la fracción proteica y aminoacídica es similar en ambas líneas, los valores

absolutos de ambas fracciones son mayores en la línea grasa, lo cual indicaría un mayor recambio proteico y, por tanto, una mayor disponibilidad de sustrato para la síntesis de lípidos, dando como resultado una menor eficiencia de retención de proteína (MacLeod y col., 1988).

Figura 1.6: Incorporación de ¹⁴C-leucina dietética en el tejido adiposo de líneas grasas y magras de pollos Broiler.



- Diferencias en la secreción de hormonas

Como se ha visto en el apartado anterior, el metabolismo lipídico y la deposición de grasa están controlados por diferentes hormonas, por tanto, cambios en la secreción o en la sensibilidad celular a éstas podrían explicar el mayor engrasamiento de las líneas grasas. Sin embargo, los resultados obtenidos en diferentes experimentos no son totalmente concluyentes.

El hecho de que las líneas grasas presenten una concentración plasmática de glucosa menor que las magras (Dimock y col., 1988; Lefebvre y col., 1988; Hermier y col., 1991) sugiere una implicación de la insulina, la cual aumenta el transporte de glucosa a través de las membranas celulares, inhibe la gluconeogénesis, aumenta la síntesis de lípidos a partir de los carbohidratos e incrementa la incorporación de ácidos grasos a las VLDL (Simon, 1988).

En diferentes estudios (Hermier y col., 1991; Lefebvre y col., 1988) se ha demostrado la relación entre la glucosa, la concentración de VLDL y el engrasamiento, en líneas de pollos seleccionadas en base a diferentes criterios (Tabla 1.9 y 1.10), lo cual podría indicar una diferente secreción de insulina o respuesta a ésta en las líneas grasas de pollos respecto a las magras.

Touchburn y col. (1981) asociaron la menor concentración de glucosa plasmática en los pollos de líneas grasas con un incremento en la concentración de insulina en estado de ayuno. Dupont y col. (1999), encontraron sólo diferencias en la concentración de insulina en estado de consumo. Ambos autores coinciden en que esta diferente secreción de insulina sería la responsable del diferente engrasamiento entre ambas líneas de pollos.

Tabla 1.9: Grasa abdominal, triglicéridos y glucosa plasmáticos en líneas grasas (LG) y magras (LM) seleccionadas según diferentes criterios.

Criterio de selección	Línea	Grasa abdominal (% PV)	Triglicéridos plasmáticos (g/L)	Glucosa plasmática (g/L)
Grasa abdominal	LM	1.50	0.33	2.12
	LG	3.80	0.35	1.91
VLDL	LM	1.36	0.21	1.90
	LG	2.30	0.26	1.67
Glucosa	LM	2.39	0.20	2.10
	LG	2.80	0.27	1.78

% PV: Porcentaje sobre peso vivo
(Hermier y col., 1991)

Tabla 1.10: Grasa abdominal y glucosa plasmática en líneas grasas (LG) y magras (LM).

		LM	LG
Glucosa (mg/ml)	Progenitores	2.31	2.19
	Descendencia	2.28	2.19
Grasa abdominal (%)	Progenitores	2.93	5.23
	Descendencia	2.94	5.20
Correlación	Progenitores	-0.77	-0.41
	Descendencia	-0.36	-0.65

(Lefebvre y col., 1988)

Otra importante hormona implicada en la deposición de grasa es el glucagón, principal hormona lipolítica en aves. Aunque los estudios *in vitro* muestran la misma sensibilidad de los adipocitos de líneas grasas y magras a esta hormona (Leclercq y col., 1988), los estudios *in vivo* realizados por Dimock y col. (1988) muestran una tendencia ($P < 0.07$) de las líneas grasas a presentar niveles plasmáticos de glucagón menores a los de las líneas magras. La relación glucagón:insulina en las líneas magras fue significativamente mayor que en las líneas grasas. Estas observaciones indicarían que la menor deposición de grasa en las líneas magras es en parte consecuencia de la mayor movilización de los lípidos de reserva, inducida por el glucagón.

Respecto a las hormonas tiroideas triiodotironina (T_3) y tetraiodotironina (T_4), también existen diferencias entre diferentes líneas de pollos. Mitchell (1988), observó una mayor concentración de T_3 total y libre y T_4 libre en las líneas magras, respecto a las grasas. Aunque las hormonas tiroideas están relacionadas con una mayor termogénesis, esta no parece ser la causa del diferente engrasamiento entre líneas de pollo, ya que no se han observado diferencias en estudios calorimétricos (MacLeod y col., 1988).

Sin embargo, otros mecanismos podrían estar implicados. Las hormonas tiroideas estimulan la deposición de proteína, por lo que los niveles menores en las líneas grasas estimularían la síntesis de lípidos a partir de los aminoácidos, hecho que parece confirmarse por la mayor incorporación en el tejido adiposo de ^{14}C proveniente de aminoácidos observado en estas líneas (Mamier y col, 1986).

4.2. DIFERENTE DEPOSICIÓN DE GRASA ENTRE MACHOS Y HEMBRAS

Al igual que en mamíferos, las aves de sexo femenino inician la deposición de lípidos antes que los machos y acumulan mayor cantidad de grasa que éstos. Estas diferencias se atribuyen, por un lado, a la diferente secreción de hormona de crecimiento entre sexos y, una vez alcanzada la madurez sexual, a la secreción de hormonas sexuales.

4.3. FACTORES AMBIENTALES QUE MODIFICAN LA DEPOSICIÓN DE GRASA

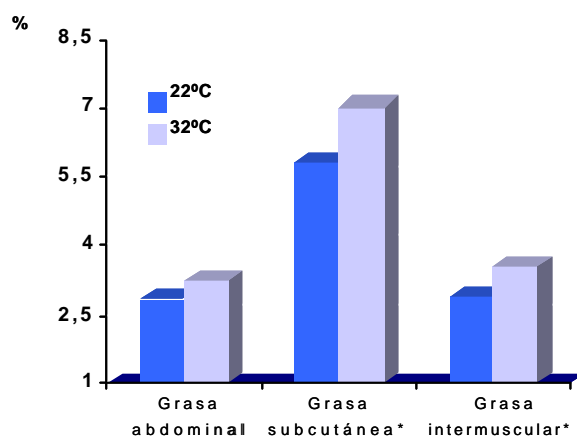
Los principales factores ambientales que pueden modificar la deposición de grasa son los periodos de luz y la temperatura.

En el estudio de Buyse y Decuypere (1988), el programa de luz intermitente de 1 hora de luz y 2 ó 3 horas de oscuridad mejoró el índice de conversión y redujo la deposición de grasa abdominal respecto al patrón de luz continua (23,5 horas de luz y 0,5 horas de oscuridad). Dicho efecto se produciría muy posiblemente por la pauta de alimentación que comporta uno y otro patrón de iluminación.

Existen diferentes estudios que muestran cómo el aumento de temperatura ambiental reduce el crecimiento y aumenta la deposición de grasa en el pollo (Ain Baziz y col., 1996; Cahaner y Leenstra, 1992). El aumento de temperatura por encima de 21°C produce una reducción en la ingestión de alimento, empeora el índice de conversión y produce un retardo en el crecimiento.

Tal y como muestra Cahaner y Leenstra (1992), dicho efecto es más acentuado en aves de edad más avanzada que en aves jóvenes, y en machos más que en hembras. Paralelamente, se produce un incremento en el porcentaje de grasa abdominal y subcutánea, principalmente (Figura 1.7), que puede suponer hasta 1,9 g/kg/°C de incremento de grasa en la carcasa (Fisher, 1984). El perfil de ácidos grasos de diferentes depósitos lipídicos se vuelve más saturado con el aumento de temperatura ambiental, lo cual podría indicar mayor síntesis endógena. La reducción en el metabolismo basal y la actividad física con temperaturas elevadas, dejaría más energía disponible para la síntesis y almacenamiento de lípidos.

Figura 1.7: Efecto de la temperatura ambiental sobre la deposición de grasa en pollos de 7 semanas de edad. (% sobre peso de muslo).



(Ain Baziz y col., 1996)

4.4. FACTORES NUTRICIONALES QUE MODIFICAN LA DEPOSICIÓN DE GRASA

Podrían citarse como principales factores nutricionales que afectan la deposición de grasa en el pollo, los regímenes de alimentación, la ingestión de energía o concentración energética de la ración, la relación energía:proteína, la inclusión de grasa en la dieta y el perfil de ácidos grasos de ésta.

4.4.1. Pautas de alimentación

Los sistemas de producción de pollos de carne permiten una disposición de alimento ininterrumpida durante 18-23 horas. Esto supone un flujo de nutrientes constante y una balance positivo de energía durante prácticamente todo el periodo productivo. Sin embargo, al igual que en mamíferos, una restricción de alimento durante un periodo de tiempo determinado reduce la deposición de lípidos e incrementa la movilización de éstos para la obtención de energía, por lo que cabe esperar cambios en la composición corporal del pollo sometido a diferentes patrones de alimentación.

Plavnik y Hurwitz (1988 y 1991) aplicaron restricciones de alimento de entre 3 y 7 días a pollos, durante las primeras semanas de vida y obtuvieron mejor índice de conversión y menor deposición de grasa abdominal sin cambios en el peso vivo final. Sin embargo, en estudios posteriores, otros autores obtuvieron diferentes resultados. Una restricción del 50% de los 6 a los 12 días de edad (Zubair y Leeson, 1996) produjo mejor índice de conversión y menor grasa abdominal tras el periodo de restricción, sin embargo, el contenido en grasa a los 42 días fue el mismo que en el control, debido a una mayor hipertrofia de los adipocitos en los pollos sometidos a la restricción de alimento. Por otro lado, tampoco se observó un crecimiento compensatorio, por lo que a los 42 días los pollos sometidos a la restricción de alimento pesaron significativamente menos que los del control. Lippens y col. (2000) obtuvieron resultados similares, y el único beneficio obtenido por la restricción de alimento fue una disminución en el porcentaje de mortalidad.

Esta diferencia en los resultados podría ser debida a los diferentes grados de restricción aplicados o a la duración del periodo productivo. Mientras que la edad final fue de más de 50 días en los trabajos de Plavnik y Hurwitz (1988 y 1991), Zubair y Leeson (1996) y Lippens y col. (2000) utilizaron ciclos productivos de 42 días.

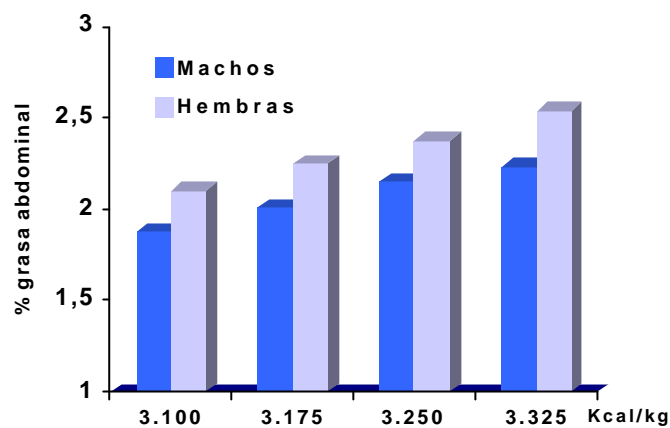
4.4.2. Ingestión de energía

Cualquier manipulación dietética que favorezca la ingestión de energía, como puede ser la presentación del alimento o la concentración energética de éste, producirá un aumento en la deposición de grasa, ya que toda la energía consumida en exceso será depositada en forma de grasa. Sin embargo, la respuesta a este factor dependerá siempre de la proporción de energía respecto a la de otros nutrientes, principalmente la proteína.

4.4.3. Relación energía:proteína

El efecto de la relación energía:proteína de la dieta sobre el crecimiento y la composición corporal ha sido demostrado repetidas veces (March y col., 1984; Donaldson, 1985; Sizemore y Siegel, 1993). Un aumento en el cociente energía:proteína produce mayor deposición de grasa, tanto abdominal (Deaton y Lott, 1985) (Figura 1.8) como corporal (Donaldson, 1985), mientras que el aumento de energía acompañado de un aumento en la proteína, de forma que se mantenga estable el cociente E:P, permite obtener un mayor peso vivo y un mejor índice de conversión sin aumentar la deposición de grasa (Tabla 1.11).

Figura 1. 8: Aumento de la deposición de grasa al aumentar la energía de la ración y mantener constante el contenido en proteína.



(Deaton y Lott, 1985)

Tabla 1.11: Efecto de la relación E:P y la concentración energética de la ración sobre el peso vivo y la deposición de grasa en pollos Broiler.

Energía (Kcal/kg)	Proteína (%)	E:P	Peso vivo (g)	IC	Grasa corporal (%)
2.777	23.17	120	491	1.57	37
2.838	20.41	139	501	1.55	40
2.887	18.29	158	576	1.60	40
2.927	16.54	177	460	1.62	47
2838	20.41		521	1.75	39
2906	20.90	139	539	1.66	38
2977	21.41		561	1.63	40
3052	21.95		556	1.61	40

(Donaldson, 1985)

Whitehead y col. (1990) estudiaron la influencia de diferentes niveles de proteína en la dieta de pollos de líneas grasas y magras. Ambas líneas presentaron mayor engrasamiento y menor crecimiento con las dietas bajas en proteína. Keren-Zvi y col. (1992) utilizaron dietas con un nivel de proteína alto, medio y bajo (14% por encima de las recomendaciones del National Research Council (NRC), recomendaciones estándar NRC y 14% por debajo de las recomendaciones NRC, respectivamente) para alimentar pollos de líneas grasas y magras. Ambas líneas presentaron un peso vivo similar en todos los tratamientos, excepto las líneas magras alimentadas con la dieta baja en proteína, la cual presentó el menor crecimiento. El índice de conversión no cambió con los diferentes tratamientos en la línea grasa, sin embargo, sí empeoró en la línea magra al utilizar la dieta baja en proteína. El incremento de deposición de grasa al pasar de la dieta media en proteína a la baja, también fue más acusado en la línea magra. Estos resultados sugieren que los requerimientos en proteína son mayores para las líneas magras y, por tanto, son más sensibles a la reducción de proteína en la dieta.

Los mecanismos implicados en el efecto de la proteína dietética sobre la deposición de grasa, han sido estudiados por diferentes autores. MacLeod (1991) observó un ligero aumento en la producción de calor en pollos alimentados con un mayor contenido de proteína, pero dicho incremento solo fue consecuencia del mayor coste de deposición de la proteína respecto a la grasa. Por tanto, la

producción de calor no parece estar implicada en los cambios corporales producidos por los diferentes niveles de proteína dietética.

Cambios en la lipogénesis, en la glucogénesis y en la secreción de diferentes hormonas, sí parecen tener relación con los niveles proteicos de la dieta, tal y como demuestra Rosebrough en varios trabajos (Rosebrough y col., 1987, 1990 y 1999). El principal efecto del incremento de proteína en la dieta parece ser una inhibición de la síntesis de lípidos que se refleja en una menor actividad de las enzimas *málico* y *ácido graso sintasa*.

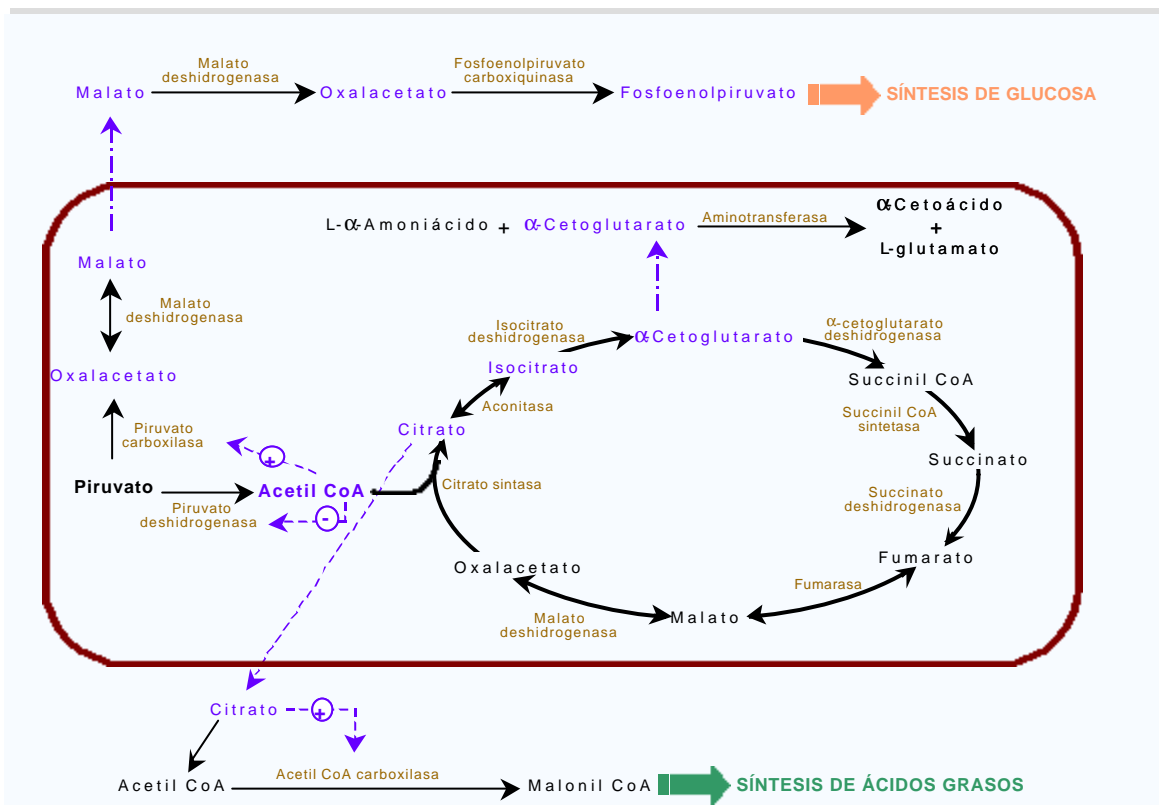
Con dietas altas en proteína se produce un aumento en la actividad de las enzimas *aminotransferasas*, necesarios para el metabolismo proteico. Estas enzimas requieren de α -oxoglutarato como receptor del grupo amino, que a su vez es obtenido a partir del isocitrato, por el enzima *isocitrato deshidrogenasa*. En condiciones normales, cuando las concentraciones de acetil CoA aumentan (balance de energía positivo), el exceso de citrato sale de la mitocondria convirtiéndose en precursor citosólico de acetil CoA y actuando como señal alostérica para la activación del enzima *Acetil CoA carboxilasa*, estimulando así la síntesis de lípidos (Lehninger, 1988). Sin embargo, cuando los requerimientos de α -oxoglutarato aumentan, el citrato es utilizado para la síntesis de éste, por lo que no se produce su transporte hacia el citosol y su efecto estimulador de la síntesis de ácidos grasos queda reducido.

Por otro lado, también se observa un incremento en la síntesis de glucosa a partir de substratos normalmente utilizados para la síntesis de lípidos, como el piruvato o acetil CoA. El acetil CoA estimulará la actividad del enzima *piruvato carboxilasa*, incrementándose la síntesis de glucosa por esta vía (Figura 1.9).

Otros cambios metabólicos asociados a las dietas altas en proteína en pollos fueron estudiados por Rosebrough y col. (1987, 1999). El aumento lineal de insulina en función del aumento de proteína dietética observado, sugiere un mecanismo de regulación de la insulina diferente entre aves y mamíferos. La concentración proteica o de determinados aminoácidos en la dieta influirían de manera importante la secreción de insulina en la especie aviar.

El factor de crecimiento similar a la insulina (IGF-I) también aumentó en los pollos alimentados con mayor porcentaje de proteína en la dieta, lo cual está directamente relacionado con el desarrollo del tejido magro (Rosebrough y col., 1988). La disminución en la concentración de T_3 parece estar relacionada con una disminución del *enzima málico* y consecuentemente con la reducción en la lipogénesis. Otros cambios encontrados al aumentar la proteína dietética son un incremento en la hormona tiroidea T_4 , y una disminución de la hormona del crecimiento.

Figura 1.9: Interrelación del metabolismo proteico, lipídico y de carbohidratos



4.4.4. Grasa alimentaria

4.4.4.1. Mayor concentración energética

La grasa alimentaria es el nutriente con mayor valor calórico, por lo que en un principio, el principal objetivo de su inclusión en la dieta fue el incremento de la concentración energética de la ración, con el fin de aumentar el rendimiento productivo de los animales de producción. Igual que al considerar el contenido energético de la ración, aumentando el nivel de grasa en la dieta se consigue mejorar los índices productivos sin incrementar la deposición de grasa, siempre y cuando se mantenga constante la relación energía : proteína de la ración.

Alao y Balnave (1985) utilizaron aceite de girasol y de maíz, grasa de pollo y dos tipos de sebo a diferentes niveles de inclusión (3 y 9%). Al aumentar la incorporación de grasa en la dieta de un 3 a un 9% se produjo un incremento de peso vivo de unos 50-200g. El índice de conversión mejoró significativamente, consecuencia de la mayor concentración energética de la ración. Sin embargo, el contenido en grasa de la carcasa fue el mismo entre los dos niveles de inclusión de grasa, debido a que en todos los tratamientos se mantuvo constante la relación grasa:proteína. Resultados similares fueron observados anteriormente, por Fuller y Rendom (1979) al comparar aceite de maíz y grasa de pollo incluidos en la dieta a niveles de 5, 10, 15 y 20%. Sin embargo, un incremento en el contenido

lipídico de la dieta manteniendo un nivel de proteína constante produce un aumento en la deposición de grasa corporal y abdominal (Deaton y Lott, 1985; Latour y col., 1994).

4.4.4.2. Efecto extracalórico

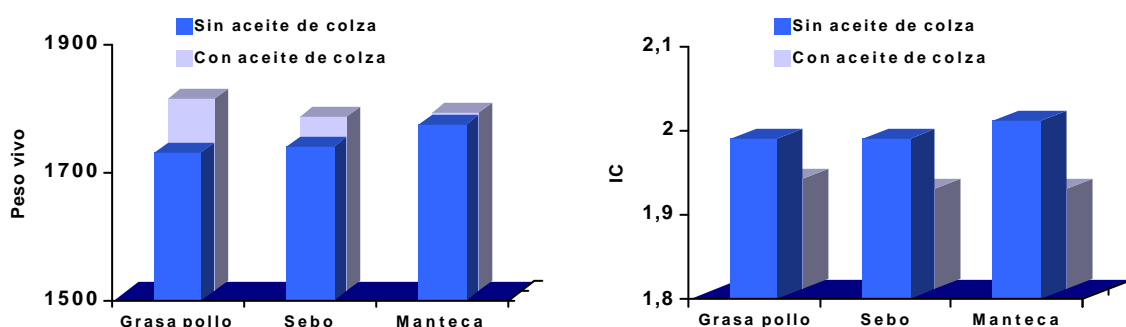
Desde hace varias décadas es conocida la mayor eficiencia energética de las dietas con grasa añadida (Carew y col., 1964; Fuller y Rendon, 1977). La sustitución isoenergética de hidratos de carbono por grasa produce un aumento en la ganancia de peso y una mejora en el índice de conversión (Nitsan y col., 1997). Dicho efecto es debido al aumento de la digestibilidad de la grasa a nivel intestinal, de forma que las dietas con grasa añadida presentan mayor energía metabolizable aparente (EMA) que las dietas sin grasa pero con la misma concentración energética. Otro efecto de la adición de grasa es una disminución en la producción de calor debido principalmente a la deposición directa de la grasa dietética lo cual produce un incremento en la energía neta de la ración. Estos efectos son los que se conocen como “efecto extracalórico” de la grasa.

4.5. EFECTO DEL PERFIL DE ÁCIDOS GRASOS SOBRE LA UTILIZACIÓN DE LA GRASA

4.5.1. Parámetros productivos y la digestibilidad de la grasa

Hulan y col., (1984) estudió el efecto de la sustitución de diferentes tipos de grasa animal por aceite de colza, sobre los parámetros productivos. En todos los casos se produjo un aumento del peso vivo (significativa en el caso de las hembras) y una mejora en el índice de conversión (Figura 1.10).

Figura 1.10: Efecto de la sustitución de diferentes tipos de grasa animal por aceite de colza sobre los parámetros productivos de pollos Broiler a los 49 días.



(Hulan y col., 1984)

Teniendo en cuenta que todas las dietas fueron isoenergéticas, dicho efecto se atribuyó al mayor contenido en energía metabolizable de las grasas poliinsaturadas y al efecto sinérgico de la combinación de ácidos grasos saturados e insaturados sobre la absorción de grasa a nivel intestinal.

Este diferente efecto de la grasa según su grado de insaturación fue observado por varios autores (Barroeta, 1989; Pinchasov y Nir., 1992; Allen y col., 1997; Dvorin y col., 1998). Dvorin y col. (1998) utilizaron dietas con 4 grados de insaturación obtenidos combinando diferentes proporciones de soja y soja hidrogenada. La ganancia de peso vivo y el índice de conversión mejoraron y el consumo disminuyó a medida que aumentaba el grado de poliinsaturación de la dieta (Tabla 1.12).

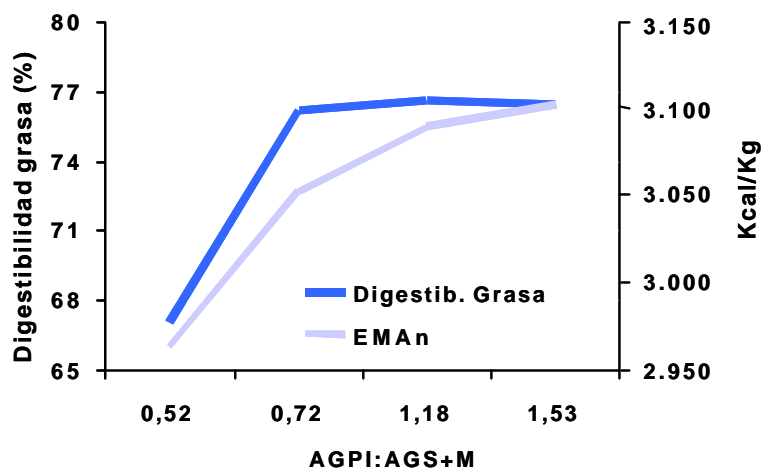
Tabla 1.12: Efecto del grado de insaturación de la grasa dietética sobre los parámetros productivos de pollos Broiler desde los 23 días hasta los 2 kg de peso vivo.

AGPI:AGS+M*	Días hasta 2kg PV	Crecimiento/d (g)	Consumo (g)	IC
1.53	23.4 ^b	59.7 ^a	3026 ^b	2.27 ^a
1.18	23.9 ^b	58.7 ^a	3170 ^b	2.27 ^a
0.72	24.9 ^{ab}	55.7 ^{ab}	3335 ^a	2.44 ^b
0.52	25.9 ^a	53.4 ^b	3492 ^a	2.44 ^b

*AGS+M = Suma de AGS y AGMI (ácidos grasos monoinsaturados)
(Dvorin y col., 1998)

La digestibilidad de la grasa y la energía metabolizable de la dieta aumentaron al aumentar el grado de insaturación de la dieta (Figura 1.11). En el caso de la digestibilidad, el incremento más importante se produjo al pasar de un ratio AGPI:AGS+AGMI (AG monoinsaturados) de 0,5 a 0,72, que correspondió a un incremento en el contenido en AGPI en la dieta de un 7% sobre un total de un 3% de grasa añadida. A partir de este grado de insaturación la digestibilidad se mantuvo en niveles prácticamente constantes. La EMAn (EMA corregida por nitrógeno) de la dieta también aumentó con el grado de insaturación al pasar de la relación 0,52 a 0,72. Sin embargo, a diferencia de la digestibilidad de la grasa, a partir de este punto la EMAn siguió aumentando de forma gradual y mantuvo siempre una pendiente considerable. De esto se deduce que el aumento de EMAn al incrementar el contenido de AGPI en la dieta no sólo es debido al aumento de digestibilidad de la grasa, sino que otros mecanismos deben estar implicados.

Figura 1.11: Efecto del grado de insaturación de la dieta sobre la digestibilidad de la grasa y la EMAn de la dieta



AGS+M: Suma de AGS y AGMI
(Dvorin y col., 1998)

4.5.2. Grasa dietética y deposición de grasa:

Teniendo en cuenta el mayor contenido en energía metabolizable de la grasa poliinsaturada, respecto a la saturada, cabría esperar que dicho exceso de energía contribuyera a una mayor deposición de grasa corporal. Sin embargo, observando los resultados de diferentes estudios realizados, se observa que la incorporación de grasa rica en AGPI en la dieta no produce mayor deposición de grasa, sino que incluso la disminuye.

Dicho efecto fue observado por Barroeta (1989) en su tesis doctoral. Al alimentar pollos broiler con dietas con sebo, una mezcla de sebo y aceite de soja o únicamente aceite de soja, observó que el porcentaje de grasa abdominal disminuía de forma significativa al aumentar la inclusión de aceite vegetal en la dieta.

Posteriormente, Shimomura y col., (1990) obtuvieron una reducción en el contenido de grasa de la carcasa de un 29%, en ratas alimentadas con dietas con aceite de girasol, respecto a las alimentadas con dietas con sebo. Paralelamente, observaron un mayor incremento térmico inducido por la dieta, mayor actividad LPL en el músculo cardíaco y esquelético, y menor secreción de insulina en las ratas alimentadas con aceite de girasol en el pienso, lo cual podría explicar la reducción en la deposición de grasa.

Otros trabajos realizados en el mismo año (Blake y Clarke, 1990; Wilson y col., 1990) estudiaron la hipótesis de que los AGPI inhibieran la síntesis lipídica en ratas. En el estudio de Wilson y col. (1990), con un nivel de inclusión de 5 y 10% de aceite de girasol o sebo en la dieta no se observó inhibición de la lipogénesis. Al aumentar la inclusión al 25% la inhibición de la lipogénesis resultó significativa y mayor para la dieta con aceite de girasol. Sin embargo, con un 50% de grasa la magnitud de

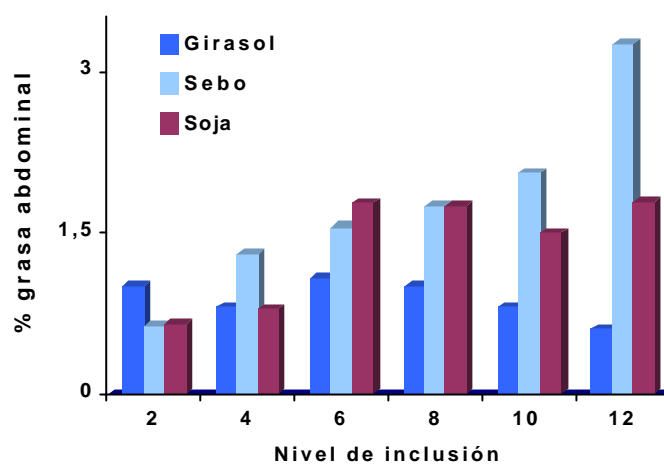
inhibición, aunque mayor que a niveles de inclusión de grasa menores, se igualó para ambos tipos de grasa.

Posteriormente, Pinchasov y Nir (1992), estudiaron también el efecto de la concentración de AGPI de la dieta sobre la deposición de grasa en el pollo, utilizando diferentes grados de sustitución de sebo por aceite vegetal (mezcla de girasol y soja). Con los 2 porcentajes más altos de AGPI en la grasa dietética (6,3 y 7%), correspondientes a unos niveles de inclusión de aceite vegetal en la dieta de 5,5 y 6,2%, y unos niveles de sebo de 1 y 0,2%, se observó una disminución en la deposición de grasa abdominal y corporal. Dicho efecto ya fue observado previamente por Pan y col. (1979).

En 1996, Vilà y Esteve-Garcia, estudiando la utilización de oleínas de girasol, sebo y soja en las dietas para pollos observaron que el patrón de deposición de grasa abdominal al aumentar los niveles de inclusión de grasa en la dieta era diferente para cada tipo de grasa (Figura 1.12). Mientras que aumentando el contenido en sebo de la dieta aumentaba paralelamente la grasa abdominal, en el caso de la soja, la grasa abdominal solo aumentaba hasta un cierto nivel de inclusión, manteniéndose después prácticamente constante. Y para el girasol, la deposición de grasa abdominal presentó los valores menores con el mayor porcentaje de inclusión de grasa en la dieta.

Más recientemente, Sanz (2000), en su tesis doctoral, estudia específicamente los efectos del grado de saturación de la grasa dietética sobre la deposición de grasa en el pollo. El autor confirma el efecto reductor de los ácidos grasos poliinsaturados de la dieta sobre la deposición de grasa en el pollo (Sanz y col., 1999). La sustitución en la dieta de sebo o manteca por aceite de girasol redujo tanto la deposición de grasa abdominal como la corporal total (Tabla 1.13). Los mecanismos que el autor sugiere que podrían estar relacionados con este efecto son un diferente uso metabólico de la energía según el grado de saturación de la grasa de la dieta (Sanz y col., 2000a) acompañado de una reducción en la síntesis de ácidos grasos y un aumento en su oxidación producido por las dietas ricas en ácidos grasos poliinsaturados (Sanz y col., 2000b).

Figura 1.12: Porcentaje de grasa abdominal con diferentes tipos de grasa y diferentes niveles de inclusión en la dieta.



(Vilà y Esteve-García, 1996)

Tabla 1.13: Efecto de diferentes tipos de grasa en la dieta sobre la deposición de grasa abdominal y corporal de pollos Broiler.

Grasa en la dieta (8% inclusión)	Grasa abdominal a los 52 días (g)	Grasa corporal a los 35 días (%)
Sebo	114.51 ^a	15.15 ^a
Manteca	109.07 ^a	15.00 ^a
Girasol	95.31 ^b	12.91 ^b
Sig.	0.0004	0.0141
Pooled SD	23.536	1.83

(Sanz y col., 1999 y 2000a)

Estos estudios sugieren que el perfil de ácidos grasos, de alguna manera, determina el patrón de deposición de grasa en el pollo. El principal objetivo del presente trabajo es confirmar dicha hipótesis e investigar los diferentes mecanismos que pueden estar implicados en este efecto.

5. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aïn Baziz H., P. A. Geraert, J. C. F. Padilha y S. Guillaumin (1996). Chronic heat exposure enhances fat deposition and modifies muscle and fat partition in broiler carcasses. *Poultry Sci.* 75:505-513.
- Alao, S.J. y D. Balnave (1985). Nutritional significance of different fat sources for growing broilers. *Poultry Sci.* 64:1602-1604.
- Allen, C. M., K. J. McCracken y M. R. Bedford (1997). Effect of fat type, rate of wheat inclusion and enzyme supplementation on diet metabolizability and broiler performance. *Br. Poultry Sci.* 38:S25-S45.
- Asante, E. A. y G. Bulfield (1988). Activities of NADPH-generating enzymes in genetically fat and lean chickens. In: *Leanness in Domestic Birds*. p.p.: 223-228. Ed. By Leclercq B. and Whitehead C.C. Butterworths, London.
- Barroeta, A.C. (1989). Aportación al estudio de la utilización de materias grasas en alimentación aviar. Tesis doctoral. Universitat Autònoma de Barcelona. Facultat de Veterinària.
- Bensadoun, A. (1991). Lipoprotein lipase. *Annu. Rev. Nutr.* 11:217-237.
- Blake S. L. y S. D. Clarke (1990). Suppression of rat hepatic fatty acid synthase and S14 gene transcription by dietary polyunsaturated fat. *J. Nutr.* 120:1727-1729.
- Borron, D. C., L.S. Jensen, M. G. McCartney y W. M. Britton (1979). Comparison of lipoprotein lipase activities in chickens and turkeys. *Poultry Sci.* 58(3):659-662.
- Brindley, D. (1984). Digestion, absorption and transport of fats: general principles. In: *Fats in Animal Nutrition*. p.p.:85-103. Butterworth. London.
- Butterwith S.C. (1988). Avian adipose tissue: growth and metabolism. In: *Leanness in Domestic Birds*. p.p.: 203-222. Ed. by Leclercq B. and Whitehead C.C. Butterworths, London.
- Butterwith S.C. (1989). Contribution of lipoprotein lipase activity to the differential growth of three adipose tissue depots in young broiler chickens. *Br. Poultry Sci.* 30:927-933
- Buyse J. y E. Decuypere (1988). The influence of intermittent light on broiler performance and on patterns of food intake. In: *Leanness in Domestic Birds*. p.p.: 133-137. Ed. by Leclercq B. and Whitehead C.C. Butterworths, London.
- Buyse, J., H. Michels, J. Vloeberghs, P. Saevels, J.M. Aerts, B. Ducro, D. Berckmans y E. Decuypere (1998). Energy and protein metabolism between 3 and 6 weeks of age of male broiler chickens selected for growth rate or for improved food efficiency. *Br. Poult. Sci.* 39:264-272.
- Cahaner, A. (1988). Experimental divergent selection on abdominal fat in broiler parental female and male type lines and their crosses. In: *Leanness in Domestic Birds*. p.p.:71-86. Ed. by Leclercq B. and Whitehead C.C. Butterworths, London.
- Cahaner A. y F. Leenstra (1992). Effects of high temperature on growth and efficiency of male and female broilers form lines selected for high weight gain, favourable feed conversion, and high or low fat content. *Poultry Sci.* 71:1237-1250.
- Cahaner, A. y Z. Nitsan (1985). Evaluation of simultaneous selection for live body weight and against abdominal fat in broilers. *Poultry Sci.* 64:1257-1263.

- Cahaner, A., Z. Nitsan y I. Nir (1986). Weight and fat content of adipose and nonadipose tissues in broilers selected for or against abdominal adipose tissue. *Poult. Sci.* 65:215-222.
- Carew, L. B., D. T. Hopkins y M. C. Nesheim (1964). Influence of amount and type of fat on metabolic efficiency of energy utilization by the chick. *J Nutr.* 83:300-306.
- Cartwright A.L. (1991). Adipose cellularity in *Gallus domesticus*: Investigations to control body composition in growing chickens. *J. Nutr.* 121:1486-1497.
- Cartwright A.L., H. L. Marks y D. R. Campion (1986). Adipose tissue cellularity and growth characteristics of unselected and selected broilers: Implications for the development of body fat. *Poultry Sci.* 65:1021-1027.
- Deaton, J. W. y B. D. Lott (1985). Age and dietary energy effect on broiler abdominal fat deposition. *Poultry Sci.* 64:2161-2164.
- Deaton, J.W., J.L. McNaughton, F.N. Reece y B.D. Lott (1981). Abdominal fat of broilers as influenced by dietary level of animal fat. *Poultry Sci.* 60: 1250-1253.
- Dimock, H.D., E. B. Marliss y S. P. Touchburn (1988). Plasma pancreatic hormones in genetically fat and lean chickens. In: *Leanness in Domestic Birds.* p.p.: 323-325. Ed. By Leclercq B. And Whitehead C.C. Butterworths, London.
- Dixon, J. L., S. Furukawa y H. N. Ginsberg (1991). Oleate stimulates secretion of apolipoprotein B-containing lipoproteins from Hep G2 cells by inhibiting early intracellular degradation of apolipoprotein Br. *J. Biol. Chem.* 266(8):5080-5086.
- Donalson, W. E. (1985). Lipogenesis and body fat in chicks: effects of calorie-protein ratio and dietary fat. *Poultry Sci.* 64:1199-1204.
- Drynán, L., P. A. Quant y V. A. Zammit (1996). The role of changes in the sensitivity of hepatic mitochondrial overt carnitine palmitoyltransferase in determining the onset of the ketosis of starvation in the rat. *Biochem J.* 318:767-770.
- Dupont, J., J. Chen, M. Derouet, J. Simon, B. Leclercq y M. Taouis (1999). Metabolic differences between genetically lean and fat chickens are partly attributed to the alteration of insulin signalling in liver. *J. Nutr.* 129:1937-1944.
- Dvorin, A., Z. Zoref, S. Mokady y Z. Nitsan (1998). Nutritional aspects of hydrogenated and regular soybean oil added to diets of broiler chickens. *Poultry Sci.* 77:820-825.
- Fielding, B. A. y K. N. Frayn (1998). Lipoprotein lipase and the disposition of dietary fatty acids. *Br. J. Nutr.* 80:495-502
- Fisher, C. 1984. Fat deposition in broilers. In: *Fats in Animal Nutrition.* p.p.: 437-470. Butterworths. London.
- Fuller H.L. y M. Rendon (1977). Energetic efficiency of different dietary fats for growth of young chicks. *Poultry Sci.* 56:549-557.
- Fuller H.L. y M. Rendon (1979). Energetic efficiency of corn oil and poultry fat at different levels in broiler diets. *Poultry Sci.* 58:1234-1238.
- Gabarrou J.F., P.A. Geraert, J. Williams, L. Ruffier y N. Rideau (2000). Glucose-insulin relationships and thyroid status of cockerels selected for high or low residual food consumption. *Br. J. Nutr.* 83:645-651.
- Ganong, W. F (1988). *Fisiología médica.* Ed. El Manual Moderno. México D.F.
- Geraert P. A., M. G. MacLeod, M. Larbier y B. Leclercq (1990). Nitrogen metabolism in genetically fat and lean chickens. *Poultry Sci.* 69:1911-1921.

- Geraert P. A., M. G. MacLeod, y B. Leclercq (1988). Energy metabolism in genetically fat and lean chickens: diet- and cold-induced thermogenesis. *J. Nutr.* 118:1232-1239.
- Griffin, H., F. Acamovic, K. Guo y J. Peddie (1989). Plasma lipoprotein metabolism in lean and in fat chickens produced by divergent selection for plasma very low density lipoprotein concentration. *J Lipid Res.* 30(8):1243-1250.
- Griffin, H. D., S. C. Butterwith y C. Goddard (1987). Contribution of lipoprotein lipase to differences in fatness between broiler and layer-strain chickens. *Br. Poultry Sci.* 28:197-206.
- Griffin, H. D., K. Guo, D. Windsor y S. C. Butterwith (1992). Adipose tissue lipogenesis and fat deposition in leaner broiler chickens. *J. Nutr.* 122:363-368.
- Griffin H. D. y D. Hermier (1988). Plasma lipoprotein metabolism and fattening in poultry. In: *Leanness in Domestic Birds*. p.p.: 175-201. Ed. By Leclercq B. And Whitehead C.C.: 175-201. Butterworths, London.
- Griffin, H.D. y C.C. Whitehead (1982). Plasma lipoprotein concentration as an indicator of fatness in broilers: development and use of a simple assay for plasma very low density lipoprotein. *Br. Poultry Sci.* 23:307-313.
- Griffin, H.D., C.C. Whitehead, y L. A. Broadbent (1982). The relationship between plasma triglyceride concentration and body fat content in male and female broilers – a basis for selection? *Br. Poultry Sci.* 23:15-23.
- Griffin, H.D., D. Windsor y C. Goddard (1991). Why are young broiler chickens fatter than layer-strain chicks? *Comp. Biochem. Physiol.* 100A: 205-210.
- Grunder, A. A. y J. R. Chambers (1988). Genetic parameters of plasma very low density lipoproteins, abdominal fat lipase, and protein, fatness and growth traits of broiler chickens. *Poultry Sci.* 67:183-190.
- Havenstein, G.B., P.R. Ferket, S.E. Scheideler y D.V. Larson (1994a). Growth, livability, and feed conversion of 1957 vs. 1991 broilers when fed "typical" 1957 and 1991 broiler diets. *Poultry Sci.* 73: 1785-1794.
- Havenstein, G.B., P.R. Ferket, S.E. Scheideler y D.V. Rives (1994b). Carcass composition and yield of 1991 vs. 1957 broilers when fed "typical" 1957 and 1991 broiler diets. *Poultry Sci.* 73: 1795-1804.
- Hermier, D., A. Quignard-Boulangé, I. Dugail, G. Guy, M.R. Salichon, L. Brigant, B. Ardouin y B. Leclercq (1989). Evidence of enhance storage capacity in adipose tissue of genetically fat chickens. *J. Nutr.* 119:1369-1375.
- Hermier, D., M. R. Salichon y C. C. Whitehead (1991). Relationships between plasma lipoproteins and glucose in fasted chickens selected for leanness or fatness by three criteria. *Reprod. Nutr. Dev.* 31:419-429.
- Hood, R.L. (1984). Cellular and biochemical aspects of fat deposition in the broiler chicken. *World Poultry Sci. J.* 40: 160-169.
- Hulan H. W., F. G. Proudfoot y D. M. Nash (1984). The effects of different dietary fat sources on general performance and carcass fatty acid composition of broiler chickens. *Poultry Sci.* 63:324-332.
- Jones R.L. y J. Wiseman (1985). Effect of nutrition on broiler carcass composition: influence of dietary energy content in the starter and finisher phases. *Br. Poultry Sci.* 26:381-388
- Keren-Zvi, S., Z. Nitsan, I. Nir, A. Cahaner y Z. Zoref (1992). Effect of different dietary levels of protein on fat deposition in broilers divergently selected for high or low abdominal adipose tissue. *Br. poultry Sci.* 33:517-524.

- Ketels, E. y G. Groote(1989). Effect of ratio of unsaturated to saturated fatty acids of the dietary lipid fraction on utilization and metabolizable energy of added fats in young chicks. *Poultry Sci.* 68:1506-1512.
- Knutson, V. P. (2000). The release of lipoprotein lipase from 3T3-L1 adipocytes is regulated by microvessel endothelial cells in an insulin-dependent manner. *Endocrinology.* 141:693-701.
- Langin, D., C. Holm y M. Lafontan (1996). Adipocyte hormone-sensitive lipase: a major regulator of lipid metabolism. *Proc. Nutr. Soc.* 55:93-109.
- Latour, M. A., E. D. Peebles, C. R. Boyle y D. Brake (1994). The effects of dietary fat on growth performance, carcass composition, and feed efficiency in the broilers chick. *Poultry Sci.* 73:1362-1369.
- Leclercq B.(1988). Genetic selection of meat-type chickens for high or low abdominal fat content. In: *Leanness in Domestic Birds.* p.p.: 25-41. Ed. By Leclercq B. and Whitehead C.C. Butterworths, London.
- Leclercq B., J.C. Blum y J.P. Boyer (1980). Selecting broilers for low or high abdominal fat : initial observations. *Br. Poultry Sci.*, 21 :107-113.
- Leclercq, B., B. Chevalier, M. Derouet y J. Simon (1988). *In vitro* sensitivity of adipocytes from lean or fat chickens to glucagon and to an analogue of adenosine. In: *Leanness in Domestic Birds.* p.p.: 239-242. Ed. By Leclercq B. and Whitehead C.C. Butterworths, London.
- Leclercq, B.; D. Hermier y G. Guy (1990). Metabolism of very low density lipoproteins in genetically lean or fat lines of chickens. *Reprod. Nutr. Dev.* 30:701-715.
- Leclercq, B. y A. Saadoun (1982). Selecting broilers for low or high abdominal fat: comparison of energy metabolism of the lean and fat lines. *Poultry Sci.* 61:1799-1803.
- Leenstra, F. R. (1988). Selection for leanness: results of the Spalderholt experiment. In: *Leanness in Domestic Birds.* p.p.: 59-71. Ed. By Leclercq B. and Whitehead C.C. Butterworths, London.
- Leenstra, F.R., E. Decuypere, G. Beuving, J. Buyse, L. Berghman y M. Herremans (1991). Concentrations of hormones, glucose, triglycerides and free fatty acids in the plasma of broiler chickens selected for weight gain or food conversion. *Br. Poultry Sci.* 32:619-632.
- Leenstra FR; Pit R (1988) Consequences of selection for feed conversion in broiler chickens. In: *Advances in animal breeding.* pp.: 160-163. Ed. by S. Korver, H.A.M. van der Steen, J.A.M. van Arendonk, H. Bakker, E.W. Brascamp and J. Dommerholt. Wageningen.
- Lefebvre, F. L., S. P. Touchburn, J. F. Hayes y C. W. Chan (1988) Correlations between plasma glucose and adiposity in genetically fat and lean chickens. In: *Leanness in Domestic Birds.* p.p.: 327-328. Ed. By Leclercq B. and Whitehead C.C. Butterworths, London.
- Legrand P., D. Catheline, M. C. Fichot y P. Lemarchal (1997). Inhibiting Δ -9 desaturase activity impairs triacylglycerol secretion in cultured chicken hepatocytes. *J. Nutr.* 127:249-256.
- Legrand P. y D. Hermier (1992). Hepatic Δ -9 desaturation and plasma VLDL level in genetically lean and fat chickens. *Int. J. Obesity.* 16:289-294

- Legrand, P. y P. Lemarchal (1988). Hepatic Δ -9 desaturating activity in generically lean and fat chickens. In: Leanness in domestic birds. p.p.: 233-234. Ed. By Leclercq B. and Whitehead C.C. Butterworths, London.
- Legrand, P. y P. Lemarchal (1992). Stearyl-CoA desaturase activity and triglyceride secretion in isolated and cultured hepatocytes from genetically lean and fat chickens. *Comp. Biochem. Physiol.* 102B:371-375.
- Legrand, P., J. Mallard, M. A. Bernard-Griffiths, M. Douaire y P. Lemarchal. (1987a). Hepatic lipogenesis in genetically lean and fat chickens. *In vitro* studies. *Comp. Biochem. Physiol.* 87B:789-792.
- Legrand, P., J. Mallard, M. A. Bernard-Griffiths, M. Douaire, P. Russeil y P. Lemarchal. (1987b). Lipid biosynthesis and deposition in genetically lean and fat chickens comparative *in vivo* studies with ^{14}C acetate. *Comp. Biochem. Physiol.* 86B:791-796
- Lehninger, A. L. (1988). Principios de bioquímica. Ed. Omega S.A. Barcelona. España.
- Lin, C.Y. (1981). Relationship between increased body weight and fat deposition in broilers. *World Poultry Sci. J.* 37:106-110.
- Lippens, M., G. Room, G. De Groote y E. Decuypere (2000). Early and temporary quantitative food restriction of broiler chickens. 1. Effects on performance characteristics, mortality and meat quality. *Br. Poultry Sci.* 41:343-354.
- MacLeod, M. G. (1991). Fat deposition and heat production as responses to surplus dietary energy in fowls given a wide range of metabolisable energy:protein ratios. *Br. poultry Sci.* 32:1097-1108
- MacLeod, M. G., C. C. Whitehead, H. D. Griffin y T. R. Jewitt (1988). Energy and nitrogen retention and loss in broiler chickens genetically selected for leanness and fatness. *Br. Poult. Sci.* 29:285-292.
- Mamier, B., P. A. Geraert y M. Larbier (1986). Metabolic utilization of leucine in a fat and lean line of chicken. *Comp. Biochem. Physiol.* 83A:735-737.
- March, B. E., C. MacMellan y S. Chu (1984). Characteristics of adipose tissue growth in broiler-type chickens to 22 weeks of age and the effects of dietary protein and lipid. *Poultry Sci.* 63:2207-2216.
- Mayes, P. (1995). Biosynthesis of fatty acids. In: Haper's Illustrated Biochemistry. Ed. by R.K. Murray, D. Granner, P. Mayes, V. Rodwell and D. K. Graner. 24th Edition. McGraw-Hill Professional.
- Mialhe, P., H. Karmann, F. Laurent y R. Gross (1988). Pancreatic hormones other than insulin in birds. In: Leanness in Domestic Birds. p.p.: 245-252. Ed. By Leclercq B. and Whitehead C.C. Butterworths, London
- Mitchell M. A. (1988). Plasma thyroid hormone levels in divergent lines of lean and fat broilers. In: Leanness in Domestic Birds. p.p.: 313-321. Ed. By Leclercq B. and Whitehead C.C. Butterworths, London.
- Montalto, M. B. y A. Bensadoun (1993). Lipoprotein lipase synthesis and secretion: effects of concentration and type of fatty acids in adipocyte cell culture. *J. Lipid Res.* 34:397-407.
- Moran, E.T. (1986). Variations in body composition of poultry. *Proc. Nutr. Soc.* 45: 101-109.
- Nir I., Z. Nitsan y S. Keren-Zvi (1988). Fat deposition in birds. In: Leanness in Domestic Birds. p.p.: 141-174. Ed. By Leclercq B. and Whitehead C.C. Butterworths, London.

- Nitsan Z., A. Dvorin, Z. Zoref y S. Mokady (1997). Effect of added soybean oil and dietary energy on metabolisable and net energy of broiler diets. *Br. Poultry Sci.* 38:101-106.
- Odland, L. M., G. J. Heigenhauser y Li. Spriet (2000). Effects of high fat provision on muscle PDH activation and malonyl-CoA content in moderate exercise. *J. Appl. Physiol.* 89:2352-2358.
- Ong, J. M. y P. A. Kern (1989). The role of glucose and glycosylation in the regulation of lipoprotein lipase synthesis and secretion in rat adipocytes. *J. Biol. Chem.* 264:3177-3182.
- Pan, P. R.; B. C. Dilworth; E.J. Day y T. C. Chen (1979). Effect of season of the year, sex, and dietary fats on broiler performance, abdominal fat, and preen gland secretion. *Poultry Sci.* 58:1564-1574.
- Pfaff, F. E. y R. E. Austic (1976). Influence of diet on development of the abdominal fat pad in the pullet. *J. Nutr.* 106:443-450.
- Pinchasov, Y. y I. Nir, 1992. Effect of dietary polyunsaturated fatty acid concentration on performance, fat deposition and carcass fatty acid composition in broiler chickens. *Poultry Sci.* 71: 1504-1512.
- Place, A. R. (1996). Birds and lipids: Living off the fat of the earth. *Poult. and Avian Biol. Rev.* 7:127-141.
- Plavnik, I. y S. Hurwitz (1988). Early feed restriction in chicks: effects of age, duration, and sex. *Poultry Sci.* 67:384-390.
- Plavnik, I. y S. Hurwitz (1991). Response of broiler chickens and turkey poults to food restriction of varies severity during early life. *Br. Poultry Sci.* 32:343-352.
- Pym, R.A. y P.J. Nicholls (1979). Selection for food conversion in broilers : direct and correlated responses to selection for body-weight gain, food consumption and food conversion ratio. *Br. Poult. Sci.* 20: 73-86
- Pym, R.A., P.J. Nicholls, E. Thomson, A. Choice y D.J. Farrell (1984). Energy and nitrogen metabolism of broilers selected over ten generations for increased growth rate, food intake and conversion of food to gain. *Br. Poult. Sci.* 25:529-539.
- Pym, R.A. y A.J. Solvyns (1979). Selection for food conversion in broilers : body composition of birds selected for increased body-weight gain, food consumption and food conversion ratio. *Br. Poult. Sci.* 20: 87-97
- Rosebrough, R., J. McMurtry, A. D. Mitchell y N. C. Steele (1988). Protein and energy relations in the broiler chicken. 6. Effect of dietary protein and energy restrictions on *in vitro* carbohydrate and lipid metabolism and metabolic hormone profiles. *Comp. Biochem. Physiol.* 90B:311-316.
- Rosebrough, R., J. McMurtry y N. Steele (1987). Energy and protein relations in the broiler. 5. Lipogenesis, glucose production and metabolic hormone levels as functions of age and dietary protein levels. *Growth*, 51 :309-320
- Rosebrough, R. W., J. P. McMurtry y R. Vasilatos-Youken (1999). Dietary fat and protein interactions in the broiler. *Poultry Sci.* 78 :992-998.
- Rosebrough, R. W., A. D. Mitchell, M. F. Von Vleck y N. C. Steele (1990). Protein and energy relations in the broiler chicken. *Br. Journal Nutr.* 64 :515-523.
- Saadoun, A. y B. Leclercq, 1987. *In vivo* lipogenesis of genetically lean and fat chickens: effects of nutritional state and dietary fat. *J. Nutr.* 117:428-435.

- Saha, A. K., D. R. Laybutt, D. Dean, D. Vavvas, E. Sebkova, B. Ellis, I. Klimes, E. W. Kraegen, E. Shafrir y N.B. Ruderman (1999). Cytosolic citrate and malonyl-CoA regulation in rat muscle *in vivo*. *Am. J. Physiol.* 76:E1030-1037.
- Sanz, M. (2000). Efecto de la saturación de la grasa dietética sobre la cantidad y la calidad de la grasa en el pollo broiler. Tesis Doctoral. Universidad Politécnica de Madrid. Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos.
- Sanz, M.; A. Flores y C. J. López-Bote (2000a). The metabolic use of energy from dietary fat in broilers is affected by dietary acid saturation. *Br. Poultry Sci.* 41:61-68.
- Sanz, M.; A. Flores; P. Pérez de Ayala y C.J. López-Bote, 1999. Higher lipid accumulation in broilers fed on saturated fats than in those fed on unsaturated fats. *Br. Poultry Sci.* 40: 95-101.
- Sanz, M.; C. J. López-Bote; D. Menoyo y J. M. Bautista (2000b). Abdominal fat deposition and fatty acid synthesis are lower and β -oxidation is higher in broiler chickens fed diets containing unsaturated rather than saturated fat. *J. Nutr.* 130:3034-3037.
- Sato, K., T. Takahashi, Y. Takahashi, H. Shiono, N. Katoh y Y. Akiba, 1999. Preparation of chylomicrons and VLDL with monoacid-rich triacylglycerol and characterization of kinetic parameters in lipoprotein lipase-mediated hydrolysis in chickens. *J. Nutr.* 129:126-131.
- Saunderson C. L. (1988). Amino acid and protein metabolism in genetically lean and fat lines of chickens. In: *Leanness in Domestic Birds*. p.p.: 363-374. Ed. By Leclercq B. and Whitehead C.C. Butterworths, London.
- Semenkovichs, C. F., M. Wimss, L. Noes, J. Etienneq y L. (1989). Insulin regulation of lipoprotein lipase activity in 3T3-L1 adipocytes is mediated at posttranscriptional and posttranslational levels. *J. Biol. Chem.* 25:9030-9038.
- Shimomura, Y. ; T. Tamura y M. Suzuki (1990). Less body fat accumulation in rats fed a safflower oil diet than in rats fed a beef tallow diet. *J. Nutr.* 120:1291-1296.
- Sibbald, I.R. (1978). The true metabolizable energy values of mixtures of tallow with either soybean oil or lard. *Poultry Sci.* 57:473-477.
- Simon, J. (1988). Insulin in birds: metabolic effects and possible implications in genetically fat and lean chickens. In: *Leanness in Domestic Birds*. p.p.: 253-267. Ed. By Leclercq B. and Whitehead C.C. Butterworths, London.
- Sizemore, F. G. y H. S. Siegel (1993). Growth, feed conversion, and carcass composition in females of four broiler crosses fed starter diets with different energy levels and energy to protein ratios. *Poultry Sci.* 72:2216-2228
- Sklan, D. (1979). Digestion and absorption of lipids in chicks fed triglycerides or free fatty acids: synthesis of monoglycerides in the intestine. *Poult Sci.* 58(4):885-889.
- Soller, M. y Y. Eitan (1984). Why does selection for live weight gain increase fat deposition? A model. *World Poultry Sci. J.* 40: 5-9.
- Sorensen P. (1988). The influence on leanness of selection for feed efficiency. In: *Leanness in domestic birds*. p.p.: 127-128. Ed. by B. Leclercq and C.C. Whitehead. Butterworth, London.
- Touchburn, S., J. Simon y B. Leclercq (1981). Evidence of a glucose-insulin imbalance and effect of dietary protein and energy level in chickens selected for high abdominal fat content. *J. Nutr.* 111: 325-335

- Vannier, C., S. Deslex, A. Pradines-Figueres y G. Ailhaud (1989). Biosynthesis of lipoprotein lipase in cultured mouse adipocytes. I. Characterization of a specific antibody and relationships between the intracellular and secreted pools of the enzyme. *J. Biol. Chem.* 264:13199-13205.
- Vilà, B. y E. Esteve-Garcia (1996). Studies on acid oils and fatty acids for chickens. I. Influence of age, rate of inclusion and degree of saturation on fat digestibility and metabolisable energy of acid oils. *Br. Poultry Sci.* 37:105-117.
- Welch, V. A. y J. T. Borlakoglu (1992). Absorption and transport of dietary lipid: Effect on some lipid-related health problems. In: *Fatty acids in foods and their health implications*. p.p.:559-612. Ed. By C. Kuang. Marcel Dekker, Inc. New York.
- Whitehead, C.C. (1990). Divergent selection of lean and fat lines of broilers over eight generations using plasma very low density lipoprotein as selection criterion. *Br. Poultry Sci.* 31:293-305.
- Whitehead, C.C., J. Armstrong y K. M. Herron (1990). The growth to maturity of lean and fat lines of broiler chickens given diets of different protein content: body composition, plasma lipoprotein concentration and initial egg production. *Anim. Prod.* 50:183-190
- Whitehead, C.C. y H. D. Griffin (1982). Plasma lipoprotein concentration as an indicator of fatness in broilers: effect of age and diet. *Br. Poultry Sci.* 23:299-305.
- Whitehead, C.C. y H. D. Griffin (1984). Development of divergent lines of lean and fat broilers using plasma very low density lipoprotein concentration as selection criterion: the first three generations. *Br Poultry Sci.* 25:573-582.
- Wilson, M. D.; W. L. Blake; L. M. Salaty y S. D. Clarke (1990). Potency of polyunsaturated and saturated fats as short-term inhibitors of hepatic lipogenesis in rats. *J. Nutr.* 120:544-552
- Wiseman, J., F. Salvador y J. Craigon (1991). Prediction of the apparent metabolizable energy content of fats fed to broiler chickens. *Poultry Sci.* 70:1527-1533.
- Zubair A. K. y S. Leeson (1996). Changes in body composition and adipocyte cellularity of male broilers subjected to varying degrees of early-life feed restriction. *Poultry Sci.* 75:719-728.

SECCIÓN B: OBJETIVOS

6. OBJETIVOS

De acuerdo con los datos encontrados en la bibliografía, se estableció la hipótesis de que el efecto de la grasa dietética sobre el metabolismo lipídico del broiler depende del perfil de ácidos grasos. En base a esto, los objetivos principales de esta tesis fueron los siguientes.

1. Confirmar el efecto reductor de las dietas ricas en AGPI sobre la grasa abdominal, respecto a los AGS y determinar el efecto de las dietas ricas en AGMI.
2. Establecer un modelo experimental que permitiese investigar los mecanismos implicados en la menor deposición de grasa producida por los AGPI.
3. Determinar el efecto de diferentes perfiles de ácidos grasos en la dieta sobre otros depósitos lipídicos separables.
4. Estudiar el efecto de diferentes perfiles lipídicos en la dieta sobre la retención de energía, proteína, grasa y ácidos grasos.
5. Determinar la actividad lipogénica hepática *in vivo* en Broilers alimentados con diferentes perfiles de ácidos grasos en la dieta¹.
6. Estudiar diferentes parámetros bioquímicos sanguíneos que puedan estar relacionados con la diferente deposición de grasa.

Para alcanzar cada uno de los objetivos se realizaron 5 Trabajos Experimentales que se detallan en el apartado de Material y Métodos.

¹ Inicialmente, dicho objetivo se pretendió llevar a cabo realizando la determinación *in vitro* de los enzimas málico, acetil Co-A carboxilasa y diacilglicerol acil transferasa. Sin embargo, se consideró que la determinación *in vivo*, midiendo la incorporación de ³H en los ácidos grasos hepáticos, podría aportar un valor más real sobre la síntesis neta de ácidos grasos en el hígado.

SECCIÓN C: MATERIAL Y MÉTODOS

7. ENSAYOS EXPERIMENTALES

Para alcanzar los objetivos presentados en el apartado anterior, se realizaron 6 ensayos experimentales cuyos resultados se agruparon para presentarse en 5 Trabajos Experimentales. Dichos ensayos experimentales se presentan esquemáticamente en la Figura 2.1.

En todos los ensayos realizados, las grasas utilizadas fueron sebo, aceite de oliva, aceite de girasol y aceite de linaza, ya que en cada una de ellas, el ácido o ácidos grasos mayoritarios corresponden a cada una de las familias de ácidos grasos objeto de estudio: el sebo rico en AGS, el aceite de oliva rico en AGMI, el aceite de girasol rico en AGPI de la serie n-6 y el aceite de linaza rico en AGPI de la serie n-3. El perfil de ácidos grasos de cada una de estas grasas se presenta en la Tabla 2.1. Una vez incluidos en el pienso, éste reflejaba el perfil de cada una de las grasas.

En el ensayo experimental 1, se determinó el efecto de 2 niveles de inclusión de los 4 tipos de grasa en el pienso (6 y 10%) sobre la deposición de grasa abdominal y muscular de machos y hembras. Dicho ensayo se utilizó, paralelamente, para determinar qué modelo experimental era el más adecuado, en cuanto a deposición de grasa, para realizar los ensayos siguientes. En este caso, se trató de las hembras y del 10% de inclusión de grasa en el pienso. Por tanto, en los siguientes ensayos, los animales utilizados siempre fueron hembras alimentadas con un 10% de inclusión de grasa en el pienso, excepto en los casos en los cuales se creyó conveniente utilizar un tratamiento adicional sin grasa añadida. Los resultados del ensayo experimental 1 se presentan en el Trabajo Experimental 1.

En el ensayo experimental 2, se determinó la deposición de grasa abdominal, la deposición de grasa corporal total y se realizó un balance de nutrientes, energía y ácidos grasos. Las dietas utilizadas fueron un mismo pienso basal, con los 4 tipos de grasa adicionados a un 10%. Se incorporó un tratamiento basal sin grasa añadida para disponer de una referencia de los parámetros objeto de estudio sin el efecto inhibitorio de la lipogénesis por parte de la grasa dietética. Los resultados de este ensayo se presentan en el Trabajo Experimental 3, aunque los datos de grasa corporal total y grasa abdominal también son presentados en el Trabajo Experimental 2.

En el ensayo experimental 3 se determinó el efecto de los cuatro tipos de dieta sobre diferentes depósitos lipídicos separables, además del abdominal. Los depósitos aislados fueron el abdominal, el mesentérico, el del cuello y el del músculo sartorius, tal y como se presenta en la Figura 2.2. Para poder relacionar la deposición de grasa en los depósitos lipídicos mencionados con la deposición de grasa corporal total, se utilizaron los resultados de dicho parámetro y de la grasa abdominal obtenidos en el ensayo experimental 2. Los resultados del ensayo experimental 2 y parte del 3, se presentan en el Trabajo Experimental 2.

En el ensayo experimental 4 se determinó la lipogénesis *in vivo*, mediante la incorporación de ^3H en los ácidos grasos hepáticos. Igualmente, se determinó el la grasa abdominal y el porcentaje de grasa hepática. Dicho ensayo se realizó en el laboratorio de radiactividad del Departamento de Bioquímica y Biotecnología de la Facultad de Química de la Universidad "Rovira i Virgili" de Tarragona. En dicho ensayo, sólo se utilizaron los tratamientos con sebo, aceite de girasol y aceite de linaza, por una cuestión de capacidad de almacenamiento de radiactividad en el laboratorio. Los resultados de dicho ensayo se presentan junto a los resultados del ensayo experimental 5 en el Trabajo Experimental 4.

En el ensayo experimental 5 se determinó nuevamente la deposición de grasa abdominal, además del porcentaje de grasa hepática y el perfil de ácidos grasos de dicha grasa. A parte de los 4 tratamientos con grasa adicionada, se utilizó un tratamiento basado en un pienso sin grasa añadida con el fin de obtener resultados de los parámetros objeto de estudio en animales en los cuales la lipogénesis no estuviese inhibida por la grasa dietética. Los resultados de este ensayo se presentan, junto a los obtenidos en el ensayo 4, en el Trabajo Experimental 4.

En el ensayo experimental 6 se determinaron diferentes parámetros bioquímicos relacionados con la deposición de grasa en el pollo. Los parámetros determinados, a parte de la grasa abdominal, fueron la concentración plasmática de VLDL, glucosa, colesterol triglicéridos, fosfolípidos, ácidos grasos libres e insulina. Al igual que en los ensayos 2 y 5, en este ensayo también se incorporó un tratamiento basal sin grasa añadida. Los resultados de dicho ensayo se presentan en el Trabajo Experimental 5.

Figura 2.1: Representación esquemática de los ensayos realizados y los Trabajos Experimentales presentados

	Animales	Tratamientos	Niveles de inclusión	Principales determinaciones	
Ensayo Experimental 1	960 machos 960 hembras	Sebo Oliva Girasol Linaza	6% 10%	Grasa abdominal Perfil ácidos grasos Colesterol muscular	TRABAJO EXPERIMENTAL 1
Ensayo Experimental 2	50 hembras	Basal Sebo Oliva Girasol Linaza	0% (Tto. Basal) 10%	Grasa abdominal Grasa corporal total Balance de energía Balance de proteína Balance de grasa Balance de ácidos grasos	TRABAJO EXPERIMENTAL 2
Ensayo Experimental 3	40 hembras	Sebo Oliva Girasol Linaza	10%	Grasa abdominal Depósitos lipídicos	TRABAJO EXPERIMENTAL 3
Ensayo Experimental 4	33 hembras	Sebo Girasol Linaza	10%	Grasa abdominal Grasa hepática Lipogénesis <i>in vivo</i>	
Ensayo Experimental 5	80 hembras	Basal Sebo Oliva Girasol Linaza	0% (Tto. Basal) 10%	Grasa abdominal Grasa hepática Ácidos grasos hepáticos	TRABAJO EXPERIMENTAL 4
Ensayo Experimental 6	70 hembras	Basal Sebo Oliva Girasol Linaza	0% (Tto. Basal) 10%	Grasa abdominal VLDL, Triglicéridos, Fosfolípidos, Ácidos grasos libres, Colesterol, Glucosa e Insulina	TRABAJO EXPERIMENTAL 5

Tabla 2.1: Composición de las grasas¹ y dietas experimentales utilizados² (mg/g fat):

	Grasas utilizadas				Dietas experimentales								
	Sebo	Oliva	Girasol	Linaza	Dieta crecimiento ³	6% grasa				10% grasa			
						Sebo	Oliva	Girasol	Linaza	Sebo	Oliva	Girasol	Linaza
Grasa (%)	93,1	94,6	94,9	95,3	5,7	7,8	7,7	7,9	8,1	11,3	11,6	11,8	12,1
AG ⁴													
c14:0	22,7	.	0,8	.	9,7	17,5	.	0,7	0,7	18,4	.	0,8	0,7
c16:0	207,3	114,2	66,4	54,6	203,7	199,8	122,9	94,3	80,5	191,9	90,0	85,1	78,0
c16:1 n-7	23,0	6,1	0,8	.	14,8	17,7	5,2	1,1	0,8	18,3	5,3	1,1	0,8
c18:0	140,8	27,5	46,9	30,2	88,4	121,6	25,6	42,1	32,7	121,8	24,5	44,8	36,9
c18:1 n-9 cis	314,3	580,9	239,1	147,6	311,0	281,0	520,7	237,9	162,2	267,7	509,7	244,2	178,5
c18:1 n-7	16,4	20,0	5,9	8,9	23,2	15,1	19,4	7,9	7,8	14,4	18,6	7,6	8,1
c18:2 n-6 cis	91,3	32,1	451,0	137,3	294,4	221,7	208,9	659,1	257,7	157,2	152,3	663,7	240,8
c18:3 n-3	7,1	5,3	0,4	514,2	29,6	21,9	27,2	18,0	451,6	17,1	19,4	15,5	538,0
c20:4 n-6	2,6	2,4	7,8	.	3,5	2,9	2,3	6,6	2,1	2,2	2,1	7,0	2,4
Otros AG ⁵	30,2	15,3	5,1	.	16,7	26,7	15,1	2,5	0,8	26,8	14,3	2,9	.
AG totales	855,7	803,8	824,2	898,3	995,0	925,9	947,2	1070,2	996,9	835,8	836,2	1072,5	1084,2
AGS	374,1	141,7	117,1	90,4	303,4	341,3	151,9	139,7	114,2	335,1	118,0	133,2	115,6
AGI	481,5	662,0	707,2	807,9	691,5	584,5	795,3	930,5	882,6	500,7	718,3	939,3	968,6
AGMI	378,5	618,8	245,8	156,5	360,0	336,2	555,9	246,8	171,2	322,5	543,4	253,1	187,5
AGPI	103,0	43,2	461,4	651,4	331,5	248,4	239,4	683,7	711,5	178,2	174,9	686,2	781,2
Total n3	7,1	5,3	0,4	514,2	29,6	21,9	27,2	18,0	451,6	17,1	19,4	15,5	538,0
Total n6	95,9	37,9	461,0	137,3	301,9	226,4	212,3	665,7	259,9	161,1	155,5	670,7	243,2
Total n9	339,1	592,7	239,1	147,6	322,1	303,4	531,3	237,9	162,6	289,8	519,6	244,5	178,5
AGS:AGI	0,8	0,2	0,2	0,1	0,4	0,6	0,2	0,2	0,1	0,7	0,2	0,1	0,1
n6:n3	13,4	7,1	1121,6	0,3	10,2	10,3	7,8	37,0	0,6	9,4	8,0	43,3	0,5

¹Los valores son la media de 2 determinaciones.

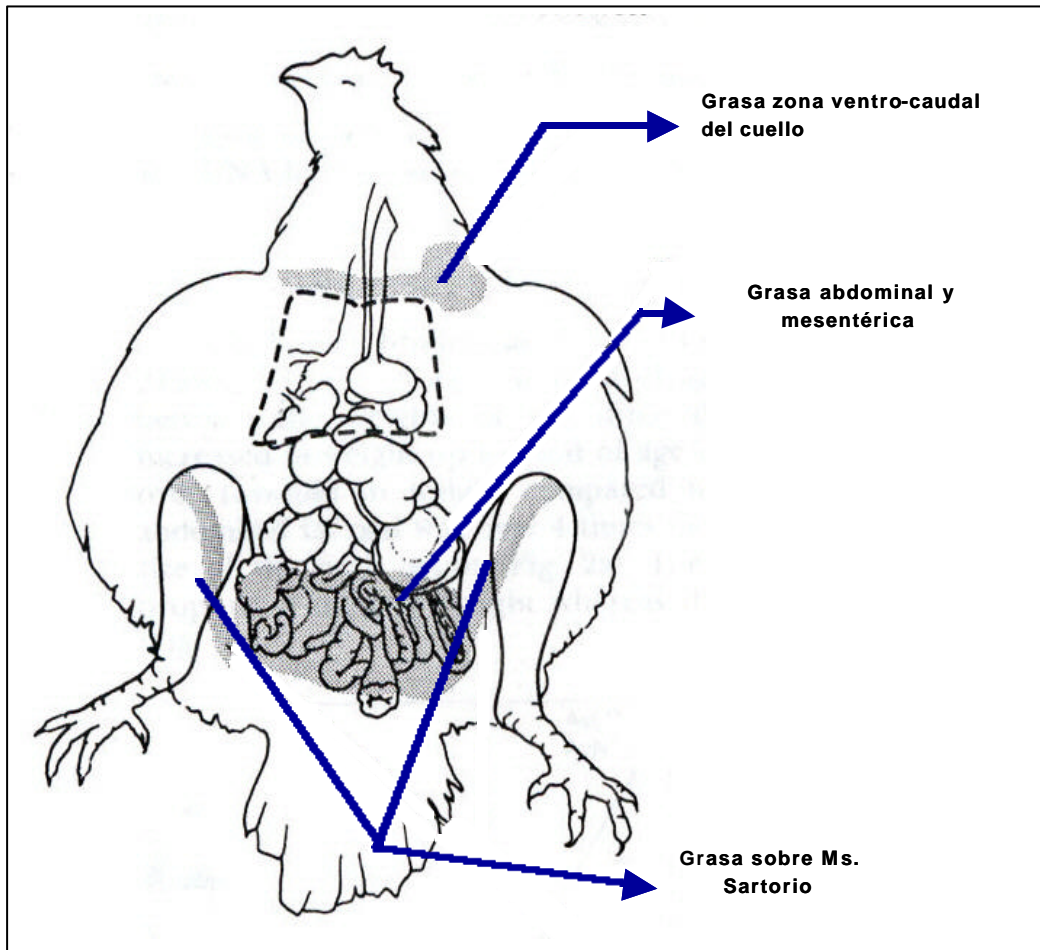
²Los valores son la media de 4 determinaciones.

³La dieta de crecimiento se suministró desde los 0 a los 21 d.

⁴AG = Ácidos grasos; AGS = Ácidos grasos saturados; AGI = Ácidos grasos insaturados; AGMI = Ácidos grasos monoinsaturados; AGPI = Ácidos grasos poliinsaturados.

⁵En otros ácidos grasos se incluyen: 15:0, c18:1n9 trans, c20:0, c20:1n9 and c20:2n6.

Figura 2.2: Depósitos lipídicos aislados en el ensayo experimental 3.



8. TÉCNICAS ANALÍTICAS

Para la determinación de colesterol en músculo y la concentración plasmática de VLDL fue necesario poner a punto las técnicas analíticas.

8.1. DETERMINACIÓN DE COLESTEROL EN TEJIDO MUSCULAR DE POLLO.

Para la determinación de colesterol se realizó la extracción de grasa de las muestras, una saponificación y una extracción del material insaponificable en hexano. La identificación y cuantificación de colesterol se realizó mediante HPLC.

8.1.1. Método analítico

8.1.1.1. Extracción de la grasa

La extracción de grasa del tejido muscular se realizó mediante el método de Folch (1957). Con el fin de obtener una cantidad de grasa de 0,2g aproximadamente, la extracción se realizó en 8g de tejido muscular del muslo y 10g de la pechuga, previamente triturados en una trituradora convencional Moulinex.

8.1.1.2. Saponificación

La grasa extraída (unos 0,2g) se disolvió en cloroformo y se enrasó en un matraz aforado de 10ml. De estos 10ml se tomaron 2ml y se pasaron a un tubo de 10ml con tapón de rosca en el cual se realizó la evaporación del cloroformo bajo corriente de nitrógeno.

Una vez evaporado todo el cloroformo se añadieron 3ml de KOH etanólica 0,5N. Se cerró el tubo y se agitó en un vortex durante un minuto. Seguidamente, los tubos se introdujeron en la estufa a 70°C durante 1 hora. Pasada esta hora se sacaron los tubos y se dejaron enfriar a temperatura ambiente. Una vez los tubos estaban fríos se les añadió 5ml de una solución en agua de NaCl al 10% y 2 ml de hexano. Se cerraron bien los tubos y se agitaron durante un minuto. Seguidamente se centrifugaron a 300g durante un minuto para acelerar la separación de la fase acuosa de la orgánica.

Una vez separadas las fases se extrajo una alícuota de hexano y se filtró con un filtro de nylon (25mm filter unit,PP) de 0'2 micras de poro, y se pasó a un vial o tubo hasta que la muestra fue inyectada en el HPLC.

8.1.1.3. Condiciones del cromatógrafo

Las condiciones del cromatógrafo se ajustaron según el método de Maraschiello (1998):

Columna de fase invertida C18, tamaño de partícula 5mm, 25 x 0,4 cm.

Fase móvil: Mezcla de Acetonitrilo:2-propanol (55:45)

Flujo: 1,2ml/min

Cantidad inyectada: 6 µl

Temperatura del horno: 35°C

Detector Diode Array

Lectura a 205-210nm

La recta patrón se realizó con diferentes concentraciones de patrón de colesterol que abarcasen el rango de concentración de colesterol en las muestras de tejido muscular y previa saponificación (al igual que en las muestras), para tomar en consideración las posibles pérdidas en el proceso de saponificación.

8.1.2. Validación del método

8.1.2.1. Linealidad

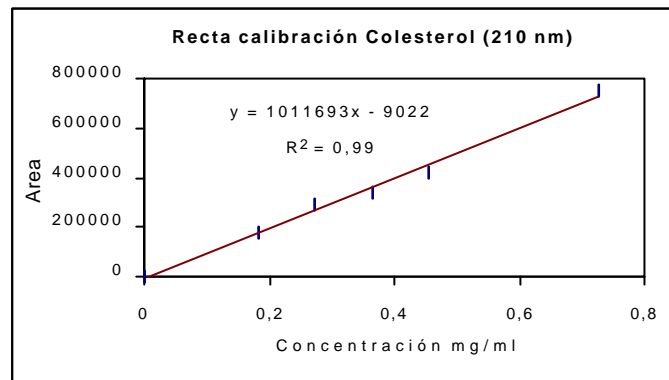
La linealidad del método se verificó mediante la recta de calibración, la cual se realizó con diferentes concentraciones de patrón de colesterol (Sigma-Aldrich Química S.A., Madrid) sometidas a la misma saponificación que las muestras de tejido muscular. La recta de calibración se ajustó a un modelo lineal (Tabla 2.2 y Figura 2.3).

Tabla 2.2: Recta de calibración para la determinación de colesterol mediante HPLC

Concentración (mg/ml)	Área	Área media
0,2727	294992	
	281728	288360

0,3636	342300	
	338968	340634
0,4545	421218	
	413644	417431
0,7272	754010	
	743693	748852
0,1818	174754	
	172790	173772

Figura 2.3: Recta de calibración para la determinación de colesterol mediante HPLC



8.1.2.2. Selectividad

La selectividad del método analítico se determinó a partir de los valores de pureza del pico obtenido. En 12 muestras analizadas, los valores de pureza del pico en la pendiente ascendente y descendente, así como los tiempos de retención fueron los presentados en la Tabla 2.3.

Tabla 2.3: Selectividad del método de determinación de colesterol mediante HPLC

Muestra	Pureza up	pureza down	T. retención
1	0,9992	0,9997	4,742
2	0,9997	0,9999	4,741
3	0,998	0,9999	4,726
4	0,9996	0,9996	4,720
5	0,9977	0,9997	4,726

6	0,9995	0,9999	4,738
7	0,9993	0,9998	4,781
8	0,9998	0,9999	4,729
9	0,9996	0,9999	4,727
10	0,9999	0,9997	4,730
11	0,9995	0,9999	4,716
12	0,9994	0,9995	4,718
Promedio	0,9993	0,9998	4,733
Desv. std.			0,017

8.1.2.3. Precisión

Para determinar la precisión del método se procedió al análisis de repetitividad, realizando el análisis repetido de 2 muestras de tejido muscular.

Los valores obtenidos, tanto en concentración como en tiempo de retención fueron los presentados en la Tabla 2.4.

8.1.2.4. Exactitud

La exactitud del método se determinó añadiendo a 2 muestras de tejido muscular una cantidad conocida de patrón de colesterol. Para la determinación del área de las muestras sin colesterol se analizaron 2 réplicas y para la determinación del área con colesterol añadido se analizaron otras 2 réplicas. La concentración teórica final de patrón de colesterol en la solución a inyectar era de 1 mg/ml. Los resultados obtenidos fueron los presentados en la Tabla 2.5.

Tabla 2.4: Precisión del método de determinación de colesterol mediante HPLC.

MUESTRA 1		
T. retención	Área	Concentración (mg/ml)
4,742	716137	0,7252
4,741	684944	0,6940
4,726	682339	0,6914
4,720	671113	0,6801
4,726	725951	0,7350
4,738	700349	0,7094
Promedio	696806	0,71
Desv. est	21193	0,021

MUESTRA 2		
T. retención	Área	Concentración (mg/ml)
4,781	746933	0,7560
4,729	755381	0,7644
4,727	744339	0,7534
4,73	753897	0,7629
4,716	762572	0,7716
4,718	770705	0,7797
Promedio	755638	0,76
Desv. est	9815	0,010

Tabla 2.5: Exactitud del método de determinación de colesterol mediante HPLC

Muestra	Área muestra sin colesterol	Área muestra con colesterol (1 mg/ml)	Diferencia de áreas	Área teórica	Concentración (mg/ml)	Recuperación %
1	692382	1713897	1023482	990977	1,0325	103,3
	688449	1712961	1022546		1,0316	103,2
Promedio	690416	1713429			1,0320	103,2
2	614900	1617970	999173	990977	1,0082	100,8
	622694	1669017	1050220		1,0592	106,0
Promedio	618797	1643494				103,4

8.2. DETERMINACIÓN DE VLDL EN PLASMA DE POLLO

La determinación de VLDL en plasma de pollo se realizó mediante el método turbidimétrico descrito por Griffin y Whitehead (1982), basado en la precipitación selectiva de las VLDL en presencia de heparina y Mg^{2+} .

8.2.1. Método analítico

Se procedió a la recogida de 1,5-2ml de sangre del pollo en tubos con EDTA y a su centrifugación para obtener el plasma (1000g durante 10 min.). Seguidamente, se mezclaron 0,2 ml de plasma con 4 ml de una solución que contenía 0,25 g de heparina por litro, 0,150 M $MgCl_2$, 0,154 M NaCl y 10mM Tampón Tris. HCl, a un pH de 7,4. Tras dejar reposar a temperatura ambiente (20-22°C) durante 30 minutos se procedió a la lectura de la absorbancia en un espectrofotómetro Shimadzu UV-160 A, (Shimadzu Instruments, Kyoto, Japón) a una longitud de onda de 540nm.

8.2.2. Validación del método

Para la validación del método se realizaron ensayos de linealidad, precisión y estabilidad.

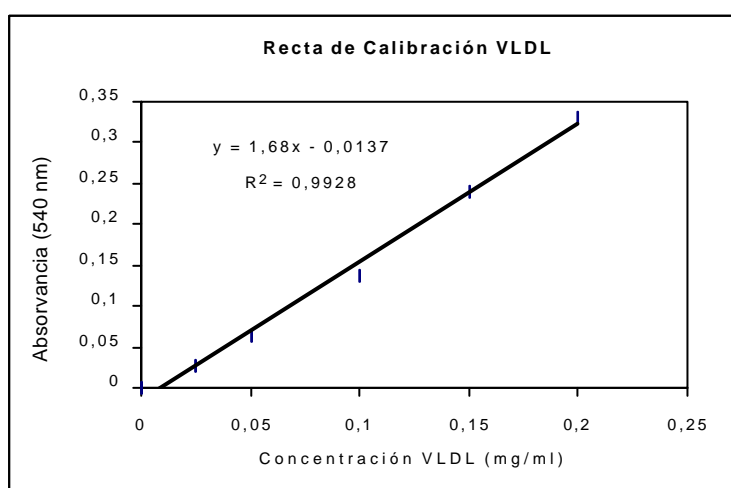
8.2.2.1. Linealidad

La linealidad del método se verificó mediante la recta de calibración, la cual se ajustaba a una ecuación lineal. Para la obtención de la recta de calibración se prepararon diferentes concentraciones de patrón de VLDL (Fluka, Suiza) y se midió su absorbancia a 540 nm (Tabla 2.6 y Figura 2.4).

Tabla 2.6: Recta de calibración del método de determinación de VLDL en plasma de pollo.

	0 mg/ml	0.025mg/ml	0.050mg/ml	0.1mg/ml	0.15mg/ml	0.2mg/ml
Abs 1	0,059	0,086	0,121	0,198	0,300	0,395
Abs 2	0,057	0,086	0,121	0,193	0,297	0,383
Media	0,058	0,086	0,121	0,196	0,299	0,389
Corrección del blanco		0,028	0,063	0,138	0,241	0,331

Figura 2.4: Recta de calibración para la determinación de VLDL en plasma de pollo.



8.2.2.2. Precisión

Para demostrar la precisión se realizó el test de repetibilidad. Se tomaron 5 alícuotas de una misma muestra de plasma y se realizó la determinación de VLDL en cada una de ellas. Los resultados obtenidos se presentan en la Tabla 2.7.

Tabla 2.7: Test de repetibilidad del método de determinación de VLDL en plasma de pollo

Réplica	Abs.blanco	Abs. muestra	mg/ml plasma
1	0,141	0,369	0,144
2	0,141	0,367	0,143
3	0,141	0,364	0,141
4	0,142	0,362	0,139
5	0,142	0,361	0,139
Promedio	0,14	0,36	0,14
		Desv. St.	0,002

8.2.2.3. Estabilidad

Debido a que la lectura de las muestras se realiza tras 30 minutos de reposo a temperatura ambiente, se decidió realizar un test de estabilidad para determinar si, sobrepasado este tiempo, la muestra sigue siendo estable. Para ello se realizó la lectura de 10 muestras de plasma a diferentes tiempos hasta un tiempo máximo de 120 minutos desde su preparación. Las muestras presentaron una óptima estabilidad durante las 2 horas siguientes a su preparación, tal y como muestran los siguientes resultados (Tabla 2.8).

Tabla 2.8: Estabilidad del método de determinación de VLDL en plasma de pollo.

Muestra		30 min	40min	60min	120min.	Promedio	Desv. St.
1	Abs. Bl.	0,167	0,168	0,17	0,177	0,200	0,008
	Abs. Reacción	0,504	0,491	0,491	0,482		
	mg/ml plasma	0,209	0,200	0,199	0,190		
2	Abs. Bl.	0,059	0,059	0,06	0,059	0,021	0,001
	Abs. Reacción	0,08	0,08	0,082	0,083		
	mg/ml plasma	0,021	0,021	0,021	0,022		
3	Abs. Bl.	0,059	0,059	0,06	0,06	0,042	0,001
	Abs. Reacción	0,115	0,115	0,117	0,118		
	mg/ml plasma	0,041	0,041	0,042	0,043		
4	Abs. Bl.	0,059	0,059	0,06	0,06	0,028	0,001
	Abs. Reacción	0,092	0,092	0,095	0,095		
	mg/ml plasma	0,028	0,028	0,029	0,029		
5	Abs. Bl.	0,062	0,062	0,063	0,062	0,042	0,001
	Abs. Reacción	0,116	0,118	0,12	0,121		
	mg/ml plasma	0,040	0,041	0,042	0,043		
6	Abs. Bl.	0,147	0,147	0,148	0,147		
	Abs. Reacción	0,348	0,347	0,35	0,346		

	mg/ml plasma	0,128	0,127	0,128	0,127	0,128	0,001
7	Abs. Bl.	0,208	0,208	0,209	0,209		
	Abs. Reacción	0,455	0,459	0,464	0,457		
	mg/ml plasma	0,155	0,158	0,160	0,156	0,157	0,002
8	Abs. Bl.	0,06	0,06	0,061	0,061		
	Abs. Reacción	0,127	0,13	0,134	0,135		
	mg/ml plasma	0,048	0,050	0,052	0,052	0,050	0,002
9	Abs. Bl.	0,134	0,133	0,134	0,134		
	Abs. Reacción	0,341	0,342	0,346	0,341		
	mg/ml plasma	0,131	0,133	0,134	0,131	0,132	0,001
10	Abs. Bl.	0,141	0,142	0,143	0,144		
	Abs. Reacción	0,369	0,369	0,373	0,367		
	mg/ml plasma	0,144	0,143	0,145	0,141	0,143	0,002

SECCIÓN D: TRABAJO EXPERIMENTAL

9. TRABAJO EXPERIMENTAL 1

Dietary Fatty Acid Profile Modifies Abdominal Fat Deposition In Broiler Chickens

N. Crespo and E. Esteve-Garcia

Institut de Recerca i Tecnologia Agroalimentàries (I.R.T.A.), Department of Animal Nutrition,
Centre de Mas Bové, Apartat 415, 43280 Reus (Tarragona) Spain

Poultry Sci (2001) 80:71-78

9.1. ABSTRACT

An experiment was conducted to study the effect of different dietary fatty acid profiles on abdominal fat deposition in broilers. Diets with four types of fats (tallow, olive oil, sunflower oil, and linseed oil), at two levels of fat inclusion (either 6 or 10%), were administered to males from 21 to 42 d and to females from 21 to 49 d of age. Both sexes were studied separately. Performance parameters, abdominal fat, muscle fat and cholesterol, and fatty acid profile of thigh, breast, and abdominal fat were determined. Broilers fed sunflower and linseed oils presented better values of feed efficiency. Abdominal fat and cholesterol content of thigh muscle were significantly lower in animals fed sunflower and linseed oils than in those fed tallow or olive oil ($P < 0.001$). In females, abdominal fat increased with level of fat inclusion only in birds fed tallow or olive oil, whereas it remained constant in birds fed sunflower or linseed oil. Muscle fat content was lower for birds fed tallow or olive oil but not significantly. Fatty acid profile of the different tissues reflected dietary fatty acid profile. Monounsaturated fatty acids were higher in abdominal fat while polyunsaturated fatty acids were higher in muscle fat. These results suggest that polyunsaturated fatty acid produce lower abdominal fat deposition than saturated or monounsaturated fatty acids.

(Key words: broiler, dietary fatty acid profile, polyunsaturated fatty acids, abdominal fat deposition, cholesterol).

9.2. INTRODUCTION

Digestibility of dietary fats is affected by the fatty acid profile. Several studies have shown better utilization of unsaturated fats, leading to higher metabolizable energy (ME) for unsaturated fats than for saturated fats. Studies in rats and broilers (Alao and Balnave, 1985; Su and Jones, 1993; Zollitsch et al., 1997) reported that unsaturated vegetable oils produce lower fecal energy losses and, consequently, higher ME than animal fats. This higher ME of unsaturated fat could be expected to cause higher fat deposition, because the additional energy could be stored as triglycerides in adipose tissue of fat depots. However, some studies have reported opposite results. Pan et al. (1979) observed that replacing soy oil with tallow increased the amount of abdominal fat in chickens. Studies in rats (Shimomura et al. 1990) reported less body fat accumulation in animals fed safflower oil than in those fed beef tallow. Vilà and Esteve-Garcia (1996) found that sunflower acid oil produced less abdominal fat deposition in broilers than tallow acid oil at different levels of fat inclusion, although the ME of tallow was lower than that of sunflower. Abdominal fat deposition increased with increasing fat inclusion level in birds fed tallow, whereas it remained constant in birds fed sunflower. Sanz et al. (1999) found less abdominal fat in broilers fed sunflower oil than in those fed tallow or lard. All these studies suggest that dietary fatty acid profile could affect abdominal fat deposition. However, there are still few experiments designed to study this effect on broiler abdominal fat.

The purpose of this experiment was to study the specific effect of different profiles of dietary fatty acids on performance parameters, abdominal fat deposition and muscle fat and cholesterol content of thigh and breast, in broiler chickens. An experiment was designed to test 4 types of fat rich in the main fatty acid families at two inclusion levels. Tallow (rich in saturated fatty acids), olive oil (rich in monounsaturated fatty acids), sunflower oil (rich in polyunsaturated fatty acids of n-6 series) and linseed oil (rich in polyunsaturated fatty acids of n-3 series) were used.

9.3. MATERIAL AND METHODS

9.3.1. Animals and Diets

One-day-old broiler chickens of the Ross 208 strain were obtained from a commercial hatchery (960 males and 960 females) and located in 48 floor pens of 2 x 2 meters with 40 animals per pen. Males and females were reared and studied separately. All chicks were fed a commercial starter diet from 0 to 21 d and allowed free access to water and food. Males were fed the experimental diets from 21 to 42 d, and females from 21 to 49 d. The experimental design consisted in a 2 x 4 factorial arrangement with 4 types of fat (tallow, olive oil, sunflower oil, and linseed oil) and 2 levels of fat inclusion (either 6 or 10%). A total of 8 treatments were distributed randomly in 3 blocks. There were a total of 120

animals per treatment in each sex. The protein level was increased in the high fat diets to maintain the calorie to protein ratio. Ingredient composition and nutrient analysis for every treatment is shown in Table 3.1. Fatty acid profile of supplemented fats and experimental diets are shown in Table 3.2.

Weight of birds was recorded at 21 d of age. At the end of the experimental period, weight and food intake per pen were recorded. Birds were always fasted 12 h before being weighed. Half of the male chickens were killed on day 42 and the other half on day 43 of the experiment. Females were killed on days 49 and 50. Eight animals per pen and day of sacrifice were randomly selected for posterior determination of abdominal fat, a total of 48 animals per treatment and sex. Day of sacrifice was included in the statistical model. Animals were killed in a local processing plant.

9.3.2. Abdominal Fat Pad

Abdominal fat pad (including fat surrounding gizzard, Bursa of Fabricius, cloaca and adjacent muscles) was removed and weighed individually at 42 and 43d of age in males, and 49 and 50d in females, in 48 animals per treatment. Abdominal fat of females fed diets with 10% fat was stored at – 20°C until analysis. Lipid content of this tissue was determined gravimetrically after extraction with chloroform:methanol (2:1) according to Folch et al. (1957) and fatty acid composition determined by gas chromatography (GC), in six animals per treatment.

9.3.3. Breast and Thigh Muscles

Breast and thigh muscles of females fed 10% fat were removed by trained personnel of the processing plant and weighed individually. Samples were stored at – 20°C until analysis. Muscle fat of 15 samples per treatment in breast and thigh was extracted by the Folch method (1957) and determined gravimetrically. Cholesterol content of extracted lipids was determined by HPLC and fatty acid composition by GC.

9.3.4. Cholesterol Determination

After extraction by Folch method, lipids were saponified with ethanolic 0.5 N KOH to remove fatty acids, and cholesterol was extracted with n-hexane. Six ml aliquots were injected in a reverse-phase column (Spherisorb ODS-2, 25 x 0.4cm length, 5mm particle size), using acetonitrile:2-propanol (55:45) as the mobile phase at a flow-rate of 1.2 ml / min, according with the method of Maraschiello (1998a). Column temperature was 35°C and detection was made with a Diode Array Detector² at 210 nm. Quantitation was made using an external standard, injecting different concentrations of cholesterol standard , after saponification as for the test samples.

² Shimazu, SPD-M10A, Duisburg 4100, Germany

9.3.5. Fatty Acid Determination

For fatty acid determination, extracted lipids were transmethylated with BF₃ and methanolic KOH (Morrison and Smith, 1964). Fatty acid profile was determined using an automated gas chromatograph³, equipped with an automatic injector. Aliquots of 2 µl were injected in a capillary column (30 m x 250 µm)⁴ with cyanopropyl methyl silicone as stationary phase. Helium was used as conductor gas at a flow rate of 0.5 ml / min in column. Split relation was 1/200. The operating conditions of the gas chromatograph were as follows: initial temperature was 130°C, increasing 3.5°C per minute to 150°C. This temperature was maintained during 25 minutes and then increased to 210°C at 10°C per minute. After 7.5 minutes temperature was increased 10°C per minute to 250°C and maintained during 5 minutes. Total time of the chromatogram was 53.2 minutes. Detector temperature (flame ionisation detector) was 250°C. Fatty acid peaks were identified by comparison with retention times of fatty acid methyl ester standards⁵. Quantitation was made by an internal standard (c17:0)⁵ added to the initial sample and using the HP Chemstation software⁶.

9.3.6. Statistical Analysis

Data for males and females were analysed separately using analysis of variance. Performance parameters were analysed taking every pen as a replicate. Results of abdominal fat and dressing percentage were analysed using every chick as a replicate and including day of sacrifice, pen effect and interaction between day and pen in the statistical model as the error term. Thigh and breast analysis was analysed taking every chick as a replicate. There was no effect of pen and day of sacrifice on these parameters, so these factors were removed from the model. The General Linear Model (GLM) of the Statistical Analysis System (SAS Institute, 1992) was used for the statistical processing of data. Differences were considered significant at $P < 0.05$ and means were compared by Duncan test. Interactions were considered significant at $P < 0.1$.

9.4. RESULTS AND DISCUSSION

9.4.1. Performance Parameters

Final body weight, dressing percentage and weight gain (not shown) were not affected by the different diets (Table 3.3). Feed intake decreased significantly as dietary fat increased. Feed efficiency (FE) was better in animals fed diets with 10% fat because of the higher metabolisable energy content. The exception was in males fed tallow where FE remained constant in both levels of fat inclusion. Feed

³ HP5980 series II, Hewlett Packard, Wilmington, DE 19808-1610

⁴ Quadrex, New Haven, CT 06525

⁵ Sigma-Aldrich Química S.A. Madrid 28100 Spain

⁶ Hewlett Packard® 1990 to 1995, Revisión. A. 03.03, Wilmington, DE 19808-1610.

intake was affected by the different fats and so was FE. Sunflower and linseed oil showed better FE in all cases ($P < 0.05$). Females fed olive oil presented better FE than those fed tallow.

The effect of type of fat on FE could be related to degree of unsaturation, since some authors (Alao & Balnave, 1985; Pinchasov & Nir, 1992; Su & Jones, 1993; Zollitsch et al., 1997) have reported that digestibility of fat increases as the degree of unsaturation increases.

9.4.2. Abdominal Fat

Sunflower and linseed oil caused lower percentages of abdominal fat at both inclusion levels and in both sexes (Table 3.3). In males, abdominal fat increased with increasing level of fat, which agrees with Deaton et al. (1981) and is in contrast with the results of Fuller & Rendon (1977) and Sizemore & Siegel (1993) who did not find any effect of dietary fat level when the energy to protein ratio remained constant. This effect was more pronounced in animals fed tallow or olive oil. In females, abdominal fat deposition showed a significant interaction. Increasing the fat content of the diets produced higher abdominal fat deposition for tallow and olive oil, whereas it remained constant for sunflower and linseed oils. This confirms the effect observed by Vilà & Esteve-Garcia (1996). They used acid oils from tallow, soybean and sunflower and reported lower percentages of abdominal fat in animals fed sunflower diets. In tallow diets, abdominal fat increased with increasing fat inclusion level, whereas it remained constant in sunflower diets. Therefore, the present results show that in females, diets rich in polyunsaturated fatty acids (PUFA) do not cause further abdominal fat deposition when dietary fat and energy increase.

The lower abdominal fat deposition in animals fed sunflower and linseed oils than in those fed tallow or olive oil, suggest an effect of dietary fat on fat deposition in broilers in agreement with Pan et al. (1979) and Sanz et al. (1999). Because abdominal fat pad is well correlated with body fatness in broilers (Hood, 1984; Whitehead et al., 1990), effect of dietary fat could be also reflected on total body fat. Therefore, birds fed sunflower and linseed oils could also decrease body fat deposition as compared to those fed tallow or olive oil. Thus, abdominal fat content and perhaps total body fat content, could be influenced by the fatty acid profile. In any case, the possible reduction in lipid deposition should be concomitant with an increase in energy expenditure. If diets containing PUFA result in more fat absorption (Wiseman, 1984), it could be presumed that unsaturated fats may lead to a higher energy absorption than diets containing saturated fatty acids (SFA). This implies that if energy retention increased when SFA were given, energy expenditure should increase when PUFA are fed, independently of the changes in lipid synthesis. It is possible that feeding PUFA results in higher oxidation of dietary fatty acids. Several studies suggest that PUFA enhance expression of acyl-CoA oxidase, the main enzyme of β -oxidation in peroxisomes (Keller et al. 1993; Rise and Galli, 1999). Higher oxidation of dietary PUFA could lead to a higher synthesis of endogenous fatty acids from carbohydrates, with a higher energy cost than if they were directly deposited from the diet (Emmans, 1994).

Lipid content of abdominal adipose tissue of females fed diets supplemented with 10% fat, was not influenced by the different treatments in concordance with Yau et al. (1991) (Table 3.4). However, in the experiment of Scaife et al. (1994), tallow caused higher lipid content on abdominal adipose tissue than soybean, rapeseed or marine oils. Pinchasov & Nir (1992) found lower values of lipid content by increasing PUFA levels in diet.

9.4.3. Muscle Fat and Protein

Level and type of fat had no effect on weight and percentage of thigh and breast and did not significantly influence fat and protein content of thigh and breast (Table 3.4). However, thighs from birds fed sunflower or linseed oil diets showed a slightly higher lipid content and, in concordance, lower protein content than thighs from birds fed tallow and olive oil. Kirchgessner et al. (1993) found an increase of fat content in breast muscle with increasing levels of linoleic acid in the diet. Scaife et al. (1994) observed that the lowest levels of muscle fat content were for tallow, in comparison with soybean, rapeseed or marine oils, although the differences were not significant. If muscle fat increases when PUFA are fed, opposite to the effect in abdominal fat, this could suggest that dietary PUFA could cause a different distribution of fat in tissues when compared to SFA or MUFA.

9.4.4. Muscle Cholesterol

Cholesterol concentration was determined in thigh and breast of females fed the high level of dietary fat (Table 3.4). Breast muscle showed lower values than thigh, possibly because of its lower fat content. Cholesterol content was significantly influenced by the dietary fatty acid profile only in thigh muscle, although in both thigh and breast, tallow and olive oil diets caused higher values than sunflower and linseed oil diets.

Effect of dietary fatty acid profile on cholesterol content of broiler meat was also reported by Maraschiello et al. (1998b), who found higher levels of breast cholesterol for birds fed lard than for those fed olive or sunflower oils. However, olive oil showed the same values than sunflower, in contrast to our findings.

9.4.5. Fatty Acid Composition of Abdominal Fat, Thigh and Breast Muscle

Fatty acid composition of abdominal fat, thigh and breast muscle is shown in Table 3.5. Animals fed tallow presented higher values of SFA, mainly myristic, palmitic and stearic acids (c14:0, c16:0 and c18:0), than those fed olive, sunflower or linseed oils. Feeding birds with olive oil caused a substitution of these SFA (mainly stearic acid) by oleic acid. Thus, birds fed olive oil presented the lowest values of stearic acid in all tissues in concordance with Scaife et al. (1994), and the highest values of oleic acid in thigh and breast. In abdominal fat of birds fed olive oil levels of oleic acid were very similar to those

fed tallow. Animals fed sunflower showed higher values of linoleic acid (c18:2 n6) than those fed tallow, olive or linseed oils. Compared to animals fed tallow, linoleic acid replaced myristic, palmitic and oleic acids in all tissues, and stearic acid in thigh muscle. Animals fed linseed oil presented the highest value of linolenic acid (c18:3 n3) in all tissues. This fatty acid also replaced myristic, palmitic and oleic acids, respect to birds fed tallow, while stearic acid remained constant between these treatments in all tissues. This suggests a small effect of PUFA on tissue stearic acid concentration as observed by Pinchasov et al. (1992). Arachidonic acid (c20:4 n6) and other fatty acids of n-6 series were in higher amounts in animals fed sunflower except in abdominal fat where birds fed sunflower and linseed oil presented the same values of this fatty acid. The lowest values of n-6 fatty acids were found in thigh and breast of birds fed linseed oil, possibly due to the competition for Δ -5 and Δ -6 desaturase between n-3 and n-6 fatty acids in these tissues. For the same reason, the lowest values of n-3 derivatives were found in muscle of animals fed sunflower oil. Eicosapentaenoic acid (c20:5 n3), docosehexaenoic acid (c22:6 n3) and other derivatives of n-3 series were in higher amounts in thigh and breast of birds fed linseed oil, while in abdominal fat derivatives of n-3 series were undetectable. Oleic acid was the predominant fatty acid in all tissues of animals fed tallow or olive oil, while in birds fed sunflower oil, linoleic acid was always the predominant fatty acid, and in those fed linseed oil linolenic acid was the predominant fatty acid in thigh. In the experiment of Ajuyah et al. (1991) oleic acid was the major fatty acid of carcass and muscle fat, but also oleic acid was the predominant fatty acid in all diets. Hrdinka et al. (1996) found that this fatty acid was predominant in all analysed tissues, included in animals fed diets with soybean oil, with a high level of linoleic acid. However, level of fat inclusion was lower than in our experiment.

Comparison of fatty acid profile in tissues is shown in Table 3.5 and Figure 3.1. In all cases, except in animals fed olive oil, abdominal fat presented higher values of oleic acid than thigh and breast muscle. However, stearic acid presented always higher values in thigh and breast than in abdominal fat. PUFA showed higher values in thigh and breast than in abdominal fat. Linoleic acid had the highest values in thigh muscle. Linolenic acid did not differ within tissues in animals fed tallow, olive oil or sunflower oil while in those fed linseed oil the lowest values of this fatty acid were in breast muscle. However, breast muscle was always the richest in n-6 and n-3 series derivatives, in concordance with López-Ferrer et al. (1999). These results suggest that PUFA are preferentially deposited in muscle fat, rather than in abdominal fat. Differences in tissue fatty acid profiles could be attributed to different roles of fatty acids in these tissues or to their different content in phospholipids. As PUFA are preferentially incorporated in phospholipids (Whitehead, 1984) and PL are in higher proportion in muscle fat than in adipose tissue fat (Enser, 1984) this could explain different composition of fat in different tissues.

9.5. CONCLUSIONS

Results of this experiment suggest that dietary fatty acid profile plays an important role in lipid deposition and metabolism. Lower abdominal fat of animals fed PUFA suggests that these fatty acids

could cause an inhibition of lipogenesis, redistribution of lipids in the body or higher energy expenditure despite their higher digestibility respect to SFA.

9.6. REFERENCES

- Alao, S. J., and D. Balnave, 1985. Nutritional significance of different fat sources for growing broilers. *Poultry Sci.* 64:1602-1604.
- Ajuyah, A. O., K. H. Lee, R. T. Hardin, and J. S. Sim, 1991. Changes in the yield and in the fatty acid composition of whole carcass and selected meat portions of broiler chickens fed full-fat oil seeds. *Poultry Sci.* 70:2304-2314.
- Deaton, J. W., J. L. McNaughton, F. N. Reece, and B. D. Lott, 1981. Abdominal fat of broilers as influenced by dietary level of animal fat. *Poultry Sci.* 60:1250-1253.
- Emmans, G. C., 1994. Effective energy: a concept of energy utilization applied across species, *Br. J. Nutr.* 71:801-821.
- Enser, M., 1984. The chemistry, biochemistry and nutritional importance of animal fats. Pages 23-51 in: *Fats in animal nutrition*. J. Wiseman, 1984. Butterworths ed.
- Folch, J., M. Lees, and G. H. Sloan-Stanley, 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem.* 226:497-507.
- Fuller, H. L., and M. Rendon, 1977. Energetic efficiency of different dietary fats for growth of young chicks. *Poultry Sci.* 56:549-557.
- Hood, R.L. 1984. Cellular and biochemical aspects of fat deposition in the broiler chicken. *World's Poultry Sci. J.* 40: 160-169.
- Hrdinka, C., W. Zollitsch, W. Knaus, and F. Lettner, 1996. Effects of dietary fatty acid pattern on melting point and composition of adipose tissue and intramuscular fat of broiler carcasses. *Poultry Sci.* 75:208-215.
- Keller, H., C. Dreyer, J. Medin, A. Mahfoudi, D. Ozato and W. Wahli, 1993. Fatty acids and retinoids control lipid metabolism through activation of peroxisome proliferator-activated receptor-retinoid X receptor heterodimers. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* Mar 15; 90 (6): 2160-4.
- Kirchgessner, M., M. Ristic, M. Kreuzer, and F. X. Roth, 1993. Inclusion of fats with high quantities of free fatty acids in broiler diets. 2. Growth as well as quality of carcass, meat and fat as affected by the stepwise substitution of saturated by unsaturated fatty acids. *Arch. Geflügelk.* 57 (6):265-274.
- López-Ferrer, S., M.D. Baucells, A. C. Barroeta, and M. A. Grashorn, 1999. N-3 enrichment of chicken meat using fish oil: Alternative substitution with rapeseed and linseed oils. *Poultry Sci.* 78:356-365.
- Maraschiello, C., 1998a. Cholesterol oxidation and parameters related to lipid oxidation in raw and cooked meat from broilers fed dietary oils and fat, natural antioxidants and prooxidants. Ph. D. Thesis, Universitat Autònoma de Barcelona (Spain).
- Maraschiello, C., E. Esteve, and J. A. García Regueiro, 1998b. Cholesterol oxidation in meat from chickens fed α -tocopherol- and β -carotene-supplemented diets with different unsaturation grades. *Lipids.* 33:705-713.
- Morrison, W. R., and M. L. Smith, 1964. Preparation of fatty acid methyl esters and dimethylacetals from lipid with boron fluoride-methanol. *J. Lipid Res.* 5:600-608.
- Pan, P.R., B. C. Dilworth, E. J. Day, and T. C. Chen, 1979. Effect of season of the year, sex and dietary fats on broiler performance, abdominal fat and preen gland secretion. *Poultry Sci.* 58:1564-1574.

- Pinchasov, Y., and I. Nir, 1992. Effect of dietary polyunsaturated fatty acid concentration on performance, fat deposition and carcass fatty acid composition in broiler chickens. *Poultry Sci.* 71:1504-1512.
- Rise, P. And C. Galli, 1999. Arachidonic and docosahexaenoic acids differentially affect the expression of fatty acyl-CoA oxidase, protein kinase and lipid peroxidation in HepG2 cells. *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids.* May-Jun; 60 (5-6): 367-70.
- Sanz, M., A. Flores, P. Pérez de Ayala, and C. J. López-Bote, 1999. Higher lipid accumulation in broilers fed on saturated fats than in those fed on unsaturated fats. *Br. Poultry Sci.* 40:95-101.
- SAS Institute, 1992. SAS[®] User's guide: Statistics. SAS Institute Inc., Cary, NC.
- Scaife, J. R., J. Moyo, H. Galbraith, W. Michie, and V. Campbell, 1994. Effect of different dietary supplemental fats and oils on the tissue fatty acid composition and growth of female broilers. *Br. Poultry Sci.* 35:107-118.
- Shimomura, Y., T. Tamura, and M. Suzuki, 1990. Less body fat accumulation in rats fed safflower oil diet than in rats fed a beef tallow diet. *J. Nutr.* 120:1291-1296.
- Sizemore, F. G., and H. S. Siegel, 1993. Growth, feed conversion and carcass composition in females of four broiler crosses fed starter diets with different energy levels and energy to protein ratios. *Poultry Sci.* 72:2216-2228.
- Su, W., and P. J. H. Jones, 1993. Dietary fatty acid composition influences energy accretion in rats. *J. Nutr.* 123:2109-2114.
- Vilà, B., and E. Esteve-Garcia, 1996. Studies on acids oil and fatty acids for chickens. I. Influence of age, rate of inclusion and degree of saturation on fat digestibility and metabolisable energy of acid oils. *Br. Poultry Sci.* 37:105-117.
- Whitehead, C. C., 1984. Essential fatty acids in poultry nutrition. Pages 153-166 in: *Fats in animal nutrition.* J. Wiseman, 1984. Butterworths ed.
- Whitehead, C. C., J. Armstrong, and K. M. Herron, 1990. The growth to maturity of lean and fat lines of broiler chickens given diets of different protein content: body composition, plasma lipoprotein concentration and initial egg production. *Anim. Prod.* 50:183-190.
- Wiseman, J. 1984. Assessment for the digestible and metabolizable energy of fats for non-ruminants. Pages 277-297 in: *Fats in animal nutrition.* J. Wiseman, 1984. Butterworths ed.
- Yau, J. C., J. H. Denton, C. A. Bailey, and A. R. Sams, 1991. Customizing the fatty acid content of broiler tissues. *Poultry Sci.* 70:167-172.
- Zollitsch, W., W. Knaus, F. Aichinger, and F. Lettner, 1997. Effects of different dietary fat sources on performance and carcass characteristics of broilers. *Anim. Food Sci. Technol.* 66:63-73.

9.7. TABLAS Y FIGURAS TRABAJO EXPERIMENTAL 1

Table 3.1: Ingredients and nutrient composition of experimental diets:

Ingredient (%)	Starter Diet ¹	Tallow		Olive oil		Sunflower		Linseed oil	
		6%	10%	6%	10%	6%	10%	6%	10%
Wheat	63.2	61.0	53.0	61.7	53.2	61.7	53.2	61.7	53.2
Gluten	6.7
Soybean meal (48% CP)	23.2	28.6	33.0	28.5	33.0	28.5	33.0	28.5	33.0
Lard	2.3
Tallow	.	6.0	10.0
Olive oil	.	.	.	6.0	10.0
Sunflower oil	0.2	0.2	.	.	.	6.0	10.0	.	.
Linseed oil	6.0	10.0
DL-Methionine	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
L- Lysine	0.3	0.1	.	0.1	.	0.1	.	0.1	.
L-Threonine	1.3
Calcium carbonate	1.3	1.6	1.3	1.3	1.3	1.3	1.3	1.3	1.3
Dicalcium phosphate	1.7	1.5	1.6	1.5	1.6	1.5	1.6	1.5	1.6
Salt	0.4	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3
Vitamin and mineral premix ²	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4
Analysed nutrient content									
Gross energy (Kcal/Kg)	3597	3689	3894	3715	3914	3723	3917	3721	3931
Crude Protein (%)	20.6	20.3	21.7	20.5	21.8	20.9	21.6	20.9	21.8
Ether extract (%)	5.7	7.8	11.3	7.7	11.6	7.9	11.8	8.1	12.1
Crude fibre (%)	2.4	2.7	2.9	2.7	2.8	2.8	2.7	2.9	2.7
Dry matter (%)	89.2	88.8	89.5	88.5	89.3	88.8	89.5	89.0	89.8

¹Starter diet fed to animals from 0 to 21 days.

²Composition of vitamin and mineral premix: One kg of feed contains: Vitamin A: 12000 UI; Vitamin D3: 5000 UI; Vitamin E: 30 mg; Vitamin K3: 3 mg; Vitamin B1: 2.2 mg; Vitamin B2: 8 mg; Vitamin B6: 5 mg; Vitamin B12: 11 µg; Folic acid: 1.5 mg; Biotin: 150 µg; Calcium pantothenate: 25 mg; Nicotinic acid: 65 mg; Mn: 60 mg; Zn: 40 mg; I: 0,33 mg; Fe: 80 mg; Cu: 8 mg; Se: 0,15 mg; Ethoxyquin: 150 mg.

Table 3.2: Fatty acid composition of supplemented fats¹ and experimental diets² (mg/g fat):

	Supplemented fats ³				Experimental Diets ⁴									
	T	OO	SO	LO	SD	6% fat				10% fat				
						T	OO	SO	LO	T	OO	SO	LO	
Fat content (%)	93.1	94.6	94.9	95.3	5.7	7.8	7.7	7.9	8.1	11.3	11.6	11.8	12.1	
Fatty acid ⁵														
c14:0	22.7	.	0.8	.	9.7	17.5	.	0.7	0.7	18.4	.	0.8	0.7	
c16:0	207.3	114.2	66.4	54.6	203.7	199.8	122.9	94.3	80.5	191.9	90.0	85.1	78.0	
c16:1 n-7	23.0	6.1	0.8	.	14.8	17.7	5.2	1.1	0.8	18.3	5.3	1.1	0.8	
c18:0	140.8	27.5	46.9	30.2	88.4	121.6	25.6	42.1	32.7	121.8	24.5	44.8	36.9	
c18:1 n-9 cis	314.3	580.9	239.1	147.6	311.0	281.0	520.7	237.9	162.2	267.7	509.7	244.2	178.5	
c18:1 n-7	16.4	20.0	5.9	8.9	23.2	15.1	19.4	7.9	7.8	14.4	18.6	7.6	8.1	
c18:2 n-6 cis	91.3	32.1	451.0	137.3	294.4	221.7	208.9	659.1	257.7	157.2	152.3	663.7	240.8	
c18:3 n-3	7.1	5.3	0.4	514.2	29.6	21.9	27.2	18.0	451.6	17.1	19.4	15.5	538.0	
c20:4 n-6	2.6	2.4	7.8	.	3.5	2.9	2.3	6.6	2.1	2.2	2.1	7.0	2.4	
Others FA ⁶	30.2	15.3	5.1	.	16.7	26.7	15.1	2.5	0.8	26.8	14.3	2.9	.	
Total FA	855.7	803.8	824.2	898.3	995.0	925.9	947.2	1070.2	996.9	835.8	836.2	1072.5	1084.2	
SFA	374.1	141.7	117.1	90.4	303.4	341.3	151.9	139.7	114.2	335.1	118.0	133.2	115.6	
UFA	481.5	662.0	707.2	807.9	691.5	584.5	795.3	930.5	882.6	500.7	718.3	939.3	968.6	
MUFA	378.5	618.8	245.8	156.5	360.0	336.2	555.9	246.8	171.2	322.5	543.4	253.1	187.5	
PUFA	103.0	43.2	461.4	651.4	331.5	248.4	239.4	683.7	711.5	178.2	174.9	686.2	781.2	
Total n3	7.1	5.3	0.4	514.2	29.6	21.9	27.2	18.0	451.6	17.1	19.4	15.5	538.0	
Total n6	95.9	37.9	461.0	137.3	301.9	226.4	212.3	665.7	259.9	161.1	155.5	670.7	243.2	
Total n9	339.1	592.7	239.1	147.6	322.1	303.4	531.3	237.9	162.6	289.8	519.6	244.5	178.5	
SFA:UFA	0.8	0.2	0.2	0.1	0.4	0.6	0.2	0.2	0.1	0.7	0.2	0.1	0.1	
n6:n3	13.4	7.1	1121.6	0.3	10.2	10.3	7.8	37.0	0.6	9.4	8.0	43.3	0.5	

¹Values are means of two determinations.

²Values are means of four determinations except for SD (two determinations).

³T = Tallow; OO = Olive oil; SO = Sunflower oil; LO = Linseed oil.

⁴SD = Starter diet fed to animal from 0 to 21 days; T = 6 or 10 g tallow per kg diet; OO = 6 or 10 g olive oil per kg diet; SO = 6 or 10 g sunflower oil per kg diet; LO = 6 or 10 g linseed oil per kg diet.

⁵FA = Fatty acids; SFA = Saturated fatty acids; UFA = Unsaturated fatty acids; MUFA= monounsaturated fatty acids; PUFA= polyunsaturated fatty acids.

⁶Other FA include c15:0, c18:1n9 trans, c20:0, c20:1n9 and c20:2n6.

Table 3.3: Performance parameters and abdominal fat pad content¹:

Males (21-42d)						Females (21-49d)					
Final weight (g)	Food intake (g/animal)	Feed efficiency (food:gain)	Dressing Percentage	Abdominal fat pad (g)	Abdominal fat pad (%)	Final weight (g)	Food intake (g/animal)	Feed efficiency (food:gain)	Dressing percentage	Abdominal fat pad (g)	Abdominal fat pad (%)

Tallow 6%	2648	3822	2.00 ^{ab}	79.91	52.88	1.92	2582	4596	2.41	78.90	73.74 ^b	2.77 ^b
Olive oil 6%	2574	3714	2.02 ^a	80.14	52.55	1.99	2596	4535	2.35	78.35	74.90 ^b	2.83 ^b
Sunflower oil 6%	2624	3601	1.92 ^c	80.28	45.15	1.67	2594	4339	2.25	78.52	69.73 ^b	2.57 ^b
Linseed oil 6%	2597	3575	1.92 ^c	80.38	44.72	1.70	2563	4319	2.28	78.59	70.90 ^b	2.65 ^b
Tallow 10%	2541	3717	2.05 ^a	80.37	55.49	2.09	2616	4515	2.33	78.71	86.47 ^a	3.22 ^a
Olive oil 10%	2586	3584	1.93 ^{bc}	80.20	57.09	2.14	2646	4420	2.23	78.69	86.73 ^a	3.20 ^a
Sunflower oil 10%	2588	3380	1.83 ^d	80.43	45.77	1.73	2601	4134	2.14	78.80	72.39 ^b	2.67 ^b
Linseed oil 10%	2591	3378	1.83 ^d	79.79	49.15	1.80	2609	4114	2.12	79.30	69.79 ^b	2.63 ^b
S.E.	27.4	37.9	0.023	0.216	1.824	0.065	35.8	47.0	0.037	0.286	2.62	0.09
P value (fat*level) ²	N.S.	N.S.	*	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	*	*
P value (treatment) ³	N.S.	***	***	N.S.	***	***	N.S.	***	**	N.S.	***	***
Tallow	2595	3770 ^ε	2.03	80.14	54.18 ^a	2.00 ^a	2599	4555 ^a	2.37 ^a	78.81	80.10	2.99
Olive oil	2580	3649 ^t	1.98	80.17	54.82 ^a	2.07 ^a	2621	4477 ^a	2.29 ^b	78.52	80.82	3.02
Sunflower oil	2606	3490 ^c	1.87	80.35	45.46 ^b	1.70 ^b	2597	4237 ^b	2.20 ^c	78.66	71.06	2.62
Linseed oil	2592	3476 ^c	1.88	80.09	46.94 ^b	1.75 ^b	2586	4217 ^b	2.20 ^c	78.94	70.35	2.64
P value	N.S.	***	***	N.S.	***	***	N.S.	***	***	N.S.	***	***
6% level	2610	3678 ^ε	1.96	80.17	48.82 ^b	1.82 ^b	2584	4447 ^a	2.32 ^a	78.59	72.32	2.71
10% level	2576	3515 ^t	1.91	80.20	51.88 ^a	1.94 ^a	2618	4296 ^b	2.21 ^b	78.87	78.84	2.93
P value	N.S.	***	**	N.S.	*	**	N.S.	***	***	N.S.	***	***

¹Values are means of 3 pens with 40 animals per pen in performance parameters and means of 48 determinations in abdominal fat, and their standard error (S.E.).

^{a,b,c,d}Values in the same column in each comparison group, with no common superscript differ significantly, $P > 0.05$ (NS); $P < 0.05$ (*); $P < 0.01$ (**); $P < 0.001$ (***).

²P value of interaction of type of fat and level of fat inclusion.

³P value of comparison of treatments obtained by combination of type and level of fat inclusion.

Table 3.4: Fat, protein and cholesterol content of thigh and breast, and lipid content of abdominal fat pad of females fed diets containing 10% fat:

	Abdominal fat pad ¹		Thigh ²				Breast ²				
	Lipid content (%)	Weight (g)	Lipid content (%)	Protein content (%)	Dry matter (%)	Cholesterol (mg/100g)	Weight (g)	Lipid content (%)	Protein content (%)	Dry matter (%)	Cholesterol (mg/100g)
Tallow	88.3	388	2.06	21.9	23.6	81.8 ^a	452	1.40	24.4	25.7	64.7
Olive oil	88.5	399	2.10	21.5	23.5	83.8 ^a	467	1.35	24.4	25.8	61.3

Sunflower oil	87.4	393	2.27	21.5	23.6	77.0 ^b	452	1.44	24.4	25.7	59.8
Linseed oil	88.1	391	2.24	21.4	23.5	76.6 ^b	453	1.35	24.3	25.6	58.8
S.E.	0.66	7.1	0.085	0.18	0.13	1.75	9.8	0.050	0.17	0.15	2.05
P	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	**	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.

^{a,b}Values in the same column with no common superscript differ significantly, P<0.05(*), P<0.01(**) or P<0.001(***)

¹Values are means of 6 determinations per treatment and their standard error (S.E.).

²Values are means of 48 determinations of weight and 15 determinations of lipid, protein, dry matter and cholesterol content per treatment, and their standard error (S.E.).

Table 3.5: Comparison of fatty acid composition per treatment in each tissue and per tissue in each treatment (mg/g fat)¹:

Fatty acid ²	Abdominal Fat						Thigh muscle						Breast muscle					
	T	OO	SO	LO	S.E.	P	T	OO	SO	LO	S.E.	P	T	OO	SO	LO	S.E.	P
c14:0	13.5 ^{aw}	3.2 ^{bw}	3.9 ^{bw}	3.9 ^{bw}	0.34	***	9.1 ^{ax}	2.8 ^{bx}	3.1 ^{bx}	2.9 ^{bx}	0.25	***	8.1 ^{ax}	2.3 ^{bx}	2.5 ^{by}	2.3 ^{by}	0.25	***
c16:0	194.5 ^{aw}	143.2 ^b	149.6 ^b	151.2 ^b	8.23	***	174.7 ^{ax}	157.4 ^b	145.6 ^c	134.7 ^c	4.16	***	167.4 ^{ax}	157.1 ^a	141.7 ^b	136.1 ^b	4.16	***
c18:0	58.8 ^{ax}	34.2 ^{bx}	52.4 ^{ax}	56.2 ^{ax}	2.91	***	83.7 ^{aw}	68.3 ^{cw}	76.5 ^{bw}	80.0 ^{abw}	1.68	***	78.2 ^{aw}	68.0 ^{bw}	75.8 ^{aw}	76.8 ^{aw}	2.09	***
c18:1n9	337.0 ^{aw}	363.3 ^a	248.8 ^{bw}	236.4 ^{bw}	17.33	***	257.0 ^{bx}	341.3 ^a	194.0 ^{cx}	180.4 ^{cx}	10.31	***	240.4 ^b	319.7 ^a	174.0 ^{cx}	159.8 ^{cy}	11.27	***
c18:2n6	83.5 ^{cy}	61.5 ^{cy}	268.5 ^{ax}	119.7 ^{by}	10.62	***	136.8 ^{cw}	121.9 ^{dw}	314.1 ^{aw}	165.4 ^{bw}	5.08	***	120.8 ^{bx}	110.6 ^{cx}	270.1 ^{ax}	135.7 ^{bx}	6.99	***
c18:3n3	6.5 ^b	6.2 ^b	4.4 ^b	176.6 ^{aw}	8.60	***	6.8 ^b	8.6 ^b	5.2 ^b	202.1 ^{aw}	3.93	***	5.7 ^b	7.2 ^b	4.1 ^b	144.4 ^{ax}	2.82	***
c20:4n6	0.1 ^{bx}	0.0 ^{bx}	1.1 ^{ay}	1.3 ^{ay}	0.12	***	29.6 ^{bw}	25.7 ^{bw}	34.8 ^{ax}	14.0 ^{cx}	1.56	***	30.3 ^{bw}	29.0 ^{bw}	49.4 ^{aw}	16.5 ^{cw}	2.21	***
c20:5n3	0.0 ^x	0.0 ^y	0.0 ^x	0.0 ^y			3.1 ^{bw}	2.6 ^{bx}	0.2 ^{cx}	9.2 ^{ax}	0.26	***	3.9 ^{bw}	4.0 ^{bw}	1.8 ^{cw}	12.7 ^{aw}	0.49	***
c22:6n3	0.0 ^y	0.0 ^y	0.0 ^y	0.0 ^y			3.8 ^{bx}	3.2 ^{bx}	1.2 ^{cx}	6.3 ^{ax}	0.27	***	5.2 ^{bw}	4.9 ^{bw}	2.4 ^{cw}	9.4 ^{aw}	0.40	***
Other SFA	0.5 ^{cx}	0.7 ^{bx}	0.7 ^b	0.9 ^a	0.06	***	1.2 ^w	1.3 ^w	1.6 ^c	1.1 ^c	0.21	N.S.	1.2 ^w	1.3 ^w	1.2 ^c	1.2 ^c	0.14	N.S.
Other n9	2.8 ^a	2.3 ^b	2.0 ^{bw}	2.0 ^{bw}	0.14	**	2.1 ^b	2.6 ^a	1.5 ^{cx}	1.2 ^{cx}	0.19	***	2.0 ^{ab}	2.6 ^a	1.5 ^{bcx}	0.9 ^{cx}	0.25	***
Other n6	0.8 ^{cy}	0.0 ^{dy}	3.5 ^{ay}	1.7 ^y	0.23	***	13.6 ^{bx}	11.8 ^{bx}	21.7 ^{ax}	6.6 ^{cx}	0.64	***	16.7 ^{bw}	15.8 ^{bw}	30.9 ^{aw}	8.4 ^{cw}	0.85	***
Other n3	0.0 ^y	0.0 ^y	0.0 ^y	0.0 ^y			6.1 ^{bx}	4.9 ^{bx}	2.4 ^{cx}	26.4 ^{ax}	0.61	***	7.2 ^{bw}	6.5 ^{bw}	3.7 ^{cw}	38.2 ^{aw}	0.82	***
Total FA	765.7	657.6 ^x	764.9	782.1 ^x	36.45	N.S.	792.1	809.4 ^{wx}	836.3	862.6 ^w	19.57	N.S.	745.3	781.3 ^w	790.1	770.6 ^x	20.82	N.S.
SFA	267.2 ^a	181.2 ^{bx}	206.6 ^{bx}	212.2 ^b	11.00	***	268.7 ^a	229.7 ^{bw}	226.8 ^{bw}	218.7 ^b	5.11	***	254.9 ^a	228.8 ^{bw}	221.1 ^{bw}	216.4 ^b	5.76	***
UFA	498.5	476.3 ^x	558.3	569.9 ^x	27.39	N.S.	523.3 ^c	579.7 ^a	609.4 ^{ab}	643.9 ^{aw}	15.70	***	490.5 ^b	552.9 ^{aw}	569.0 ^a	540.8 ^{abx}	47.77	*
MUFA	407.7 ^{aw}	408.7 ^a	280.9 ^{bw}	270.6 ^{bw}	19.71	***	323.6 ^{bx}	401.1 ^a	230.0 ^{cx}	214.0 ^{aw}	11.51	***	300.6 ^{bx}	375.0 ^a	206.6 ^{cx}	188.9 ^{cy}	12.08	***
PUFA	90.8 ^{bx}	67.7 ^{bx}	277.4 ^{ax}	299.3 ^{ay}	15.16	***	199.8 ^{cw}	178.6 ^{dw}	379.5 ^{bw}	429.9 ^{aw}	7.15	***	189.9 ^{bw}	177.9 ^{bw}	362.4 ^{aw}	351.9 ^{ax}	10.14	***
SAT:UFA	0.5 ^a	0.4 ^{bx}	0.4 ^b	0.4 ^{bw}	0.01	***	0.5 ^a	0.4 ^{bw}	0.4 ^c	0.3 ^{dx}	0.01	***	0.5 ^a	0.4 ^{bw}	0.4 ^b	0.4 ^{bw}	0.01	***
Total n9	346.6 ^{aw}	369.1 ^a	251.7 ^{bw}	238.8 ^{bw}	17.62	***	259.1 ^{bx}	343.9 ^{aw}	195.5 ^{cx}	181.6 ^b	10.46	***	242.4 ^{bx}	322.3 ^a	175.4 ^{cx}	160.7 ^{cy}	11.41	***
Total n7	61.1 ^a	39.6 ^{bx}	29.2 ^c	31.8 ^c	2.38	***	64.5 ^a	57.2 ^{aw}	34.5 ^b	32.4 ^b	3.01	***	58.2 ^a	52.7 ^{aw}	31.2 ^b	28.3 ^b	2.38	***
Total n6	84.3 ^{cy}	61.5 ^{cx}	273.0 ^{ax}	122.7 ^{by}	10.83	***	179.9 ^{bw}	159.4 ^{cw}	370.5 ^{aw}	185.9 ^{bw}	4.95	***	167.8 ^{bx}	155.3 ^{bw}	350.4 ^{aw}	160.6 ^{bx}	6.17	***
Total n3	6.5 ^{by}	6.2 ^{by}	4.4 ^{by}	176.6 ^{ax}	8.60	***	19.9 ^{bx}	19.3 ^{bx}	9.0 ^{bx}	244.0 ^{aw}	3.72	***	22.1 ^{by}	22.6 ^{by}	12.0 ^{cw}	204.7 ^{ax}	3.17	***
n6:n3	13.2 ^{bw}	10.6 ^{bw}	62.1 ^{aw}	0.7 ^c	1.06	***	9.1 ^c	8.4 ^c	43.3 ^{ax}	0.8 ^c	1.69	***	7.8 ^{by}	7.0 ^{by}	30.0 ^{ay}	0.8 ^c	0.93	***

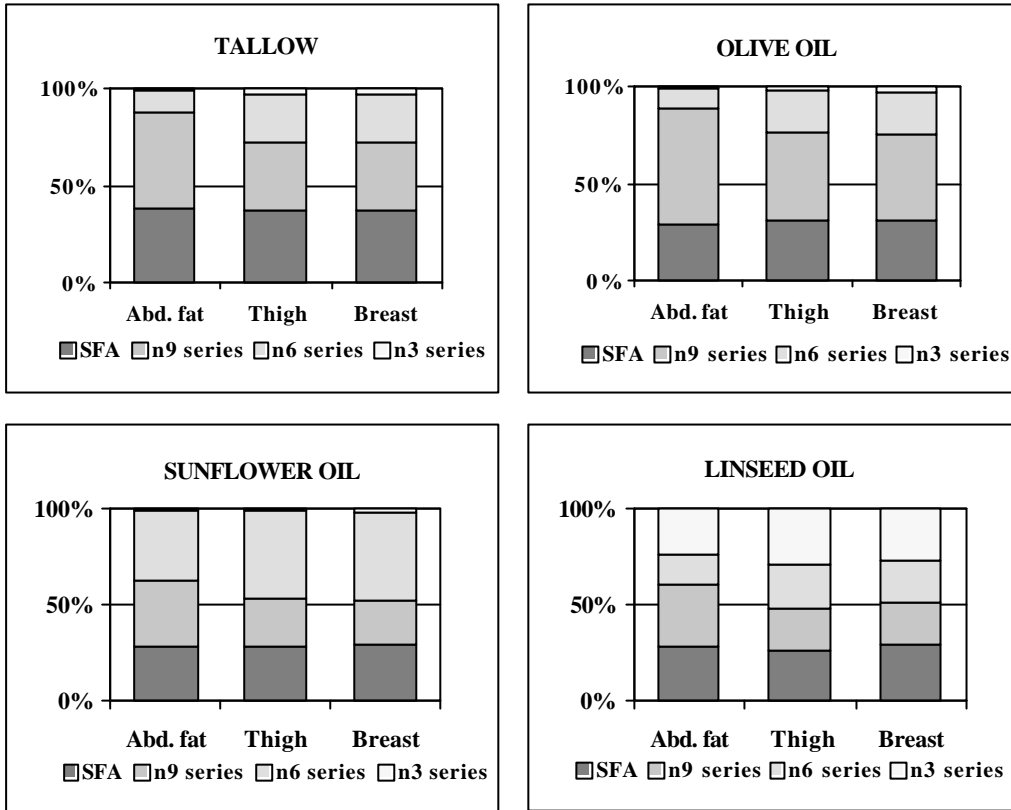
^{a,b,c,d} Values in the same row and same tissue with no common superscript differ significantly, P<0.05(*), P<0.01(**) or P<0.001(***).

^{w,x,y,z} Values in the same row and same dietary fat with no common superscript differ significantly.

¹ Values are means of 6 determinations for abdominal fat and 11 determinations for thigh and breast, and their standard error.

² Other saturated fatty acids include c20:0 and c24:0; other n9 include c18:1n9 trans and c20:1n9; Other n6 include c18:3n6, c20:2n6, and c20:3n6; Other n3 include c20:3n3 and c22:5n3; SFA=Total saturated fatty acids; UFA=Total unsaturated fatty acids; MUFA=Total monounsaturated fatty acids; PUFA=Total polyunsaturated fatty acids.

Figure 3.1: Fatty acid composition of abdominal, thigh and breast fat of females fed 10% fat.



Values of figures are correspondent to those shown in Table 3.5.

**Dietary Polyunsaturated Fatty Acids Decrease Fat Deposition in Separable Fat Depots
but not in the Remainder Carcass**

N. Crespo and E. Esteve-Garcia

Institut de Recerca i Tecnologia Agroalimentàries (I.R.T.A.), Department of Animal Nutrition, Centre de
Mas Bové, Apartat 415, 43280 Reus (Tarragona), Spain. Tel. +34 977 34 32 52. Fax. +34 977 34 40

55.

10.1. ABSTRACT

Two experiments were conducted in order to determine the effect of dietary fatty acid profile on deposition of body fat, carcass fat and separable fat depots. Diets with four types of fat (tallow, olive, sunflower, and linseed oils) at an inclusion level of 10% were administered to female broiler chickens. In Experiment 1, total body fat, carcass fat (total body fat minus abdominal fat) and abdominal fat were determined. In Experiment 2, several separable fat depots (abdominal, neck, sartorial and mesenteric fat) were removed and weighed. In general, the analysed separable fat depots were reduced in broilers fed sunflower or linseed oils with respect to those fed tallow or olive oil ($P < 0.05$). Percentage of body and carcass fat was also slightly reduced in birds fed sunflower or linseed oil, with respect to those fed tallow, although differences were not statistically significant. Regression analysis showed that body fat, carcass fat, and fat depots variability are closely correlated with abdominal fat ($R^2 = 0.69, 0.56, \text{ and } 0.81$, respectively), except for animals fed tallow in which abdominal and mesenteric fat showed a different growth pattern with respect to the other treatments and to the other fat depots. These results suggest that polyunsaturated fatty acid reduce fat deposition in separable fat depots with respect to monounsaturated and saturated fats, but not in the rest of the body fat depots. Growth pattern of fat depots can be modified by dietary fatty acid profile. Broilers fed saturated fat tend to deposit more fat in abdominal and mesenteric depots.

(Key words: broiler, dietary fatty acid profile, separable fat depot, body fat, carcass fat).

10.2. INTRODUCTION

Several studies have reported less abdominal fat accumulation in broilers fed diets containing high levels of polyunsaturated fatty acids than in those fed diets containing high levels of saturated or monounsaturated fatty acids (Sanz et al., 1999; Crespo and Esteve-Garcia, 2001). This reduction could be accompanied by a reduction in total body fat. Sanz et al. (2000a) found lower total body fat in broilers fed diets rich in polyunsaturated fatty acids than in those fed diets rich in saturated fatty acids. This effect could be due to changes in rates of lipid oxidation or lipogenesis, as has been suggested by some authors (Blake and Clarke, 1990; Cunnane and Anderson, 1997; Sanz et al., 2000b). However, other studies in broilers (Alao and Balnave, 1984) and rats (Awad et al., 1990) have shown the same body fat deposition in animals receiving different profiles of fatty acids. These results suggest that different distribution of fat could be another mechanism by which polyunsaturated fatty acids reduce abdominal fat. Reduction of abdominal fat pad could be compensated by an increment in other fat depots or in the remainder carcass fat. In this case total body fat would not differ between animals fed different dietary fatty acid profiles. When broilers are genetically selected against abdominal fat, a decrease in other fat depots is observed (Cahaner et al., 1986). However, the effect of different dietary fats on fat depots other than abdominal has not been yet studied. Therefore, it would be interesting to determine the effect of dietary fat on total body fat and on different adipose tissues to assess if reduction in abdominal fat is accompanied by a reduction in other adipose depots. We designed two experiments in order to determine the effect of different dietary fats in total body fat content and to study their effects on some separable fat depots (SFD) other than abdominal fat (AF). We used four fats differing in their fatty acid profiles: Tallow, olive oil, sunflower oil and linseed oil.

10.3. MATERIAL AND METHODS

10.3.1. Experimental Diets

The animal facilities, working protocol and killing methods approved by IRTA's Ethical Committee. In both experiments, the experimental diets were formulated as previously published (Crespo and Esteve-Garcia, 2001). Four diets were based on wheat and soybean meal with 10% added tallow, olive, sunflower, or linseed oil. In Experiment 1, we used an additional diet without supplemental fat and, consequently, with lower energy content. Composition and nutrient analyses of diets are shown in Table 4.1.

10.3.2. Experiment 1

One hundred one-day-old female broiler chickens of the Ross 308 strain were obtained from a commercial hatchery. They were placed in floor pens and fed a commercial starter diet. From 21 to 28 d, birds were fed a basal diet based on wheat and soybean meal, without additional fat. On d 28 of the

experiment, 60 birds were weighed and placed in individual cages and fed the experimental diets until day 48. Twelve animals were fed each experimental diet. On day 48, 10 animals per treatment were weighed and killed by cervical dislocation. After abdominal fat weight was determined, birds were stored at -20°C and then cut into several pieces and minced in a 20-L blade cutter⁷ for 5 minutes. The whole sample was re-frozen, freeze-dried and re-ground. A representative sample was taken from each animal for posterior analysis. Dry matter and crude protein were determined as outlined by AOAC (1990). Lipid content was determined by the Folch method (Folch et al., 1957) and gross energy determined using an adiabatic calorimetric bomb⁸. Carcass fat (whole body fat minus AF) was determined by subtracting lipid content of abdominal fat from total body fat. Lipid percentage of abdominal fat pad was assumed to be 87.9 % and equal for all treatments, as previously determined (Crespo and Esteve-Garcia, 2001).

10.3.3. Experiment 2

In Experiment 2 only diets with supplemental fat were used. Fifty one-day-old female broiler chickens of the Ross 308 strain were obtained from a commercial hatchery. They were placed in floor pens and fed a commercial started diet. From 21 to 28 days birds were fed a basal diet based on wheat and soybean meal, without additional fat. On day 28 of the experiment, 10 birds per treatment were placed in individual cages and fed the 4 experimental diets until day 53. On day 53, birds were weighed and killed by cervical dislocation. Fat from different SFD was removed and weighed. Analysed SFD were, abdominal (including fat surrounding gizzard, proventriculus, Bursa of Fabricius, cloaca and adjacent muscles), mesenteric (fat adhered to mesentery, along the intestine from the pylorus to the colon) sartorial from both thighs (subcuticular fat in cranial thigh region) and neck fat (subcuticular fat in ventro-caudal neck region), according to Cahaner (1986), and Butterwith (1989).

10.3.4. Statistical Analysis

All values were subjected to one-way ANOVA by using the GLM procedure of SAS software (SAS Institute, 1992). When the F test for treatments was significant at $P < 0.05$ in the ANOVA table, means were compared for significant difference using Duncan's multiple range test of the same statistical package. In final weight of experiment 1, a linear contrast was performed comparing the diets with added fat versus the diet without supplemental fat. The response of carcass fat (total body fat excluding abdominal fat), total body fat and fat depots with respect to abdominal fat within treatments was assessed by linear regression analysis (Snedecor and Cochran, 1980) using the REG procedure of SAS software (SAS Institute, 1992).

⁷ Model CRI-20, Castellvall, Apartat 70, Castell del Vallès, Barcelona, Spain

⁸ IKA-Kalorimetersystem C4000 A Adiabatisch. IKA-Analysentechnik GmbH. Postfach 1240. D-7843 Heitersheim, Germany.

10.4. RESULTS AND DISCUSSION

Performance parameters of the two experiments are shown in Table 4.2. In experiment 1, birds fed the diet without supplemental fat had less body weight than those fed diets with added fat ($P < 0.05$). No significant differences in final body weight of birds fed the different dietary fats were found in either experiments ($P > 0.05$). In Experiment 1, feed to gain ratio (FG) presented the highest value in broilers fed the basal diet. This differences were significant with respect to broilers fed olive oil, sunflower or linseed oils ($P < 0.05$). Between treatments with added fat, the highest value of FG was for tallow diets although differences were only significant with respect to olive and sunflower oils. In experiment 2, FG followed the same tendency although differences were not significant ($P > 0.05$). These results are in agreement with those of Deaton and Lott (1985) and Donalson (1985) in which an increase in fat inclusion of diets resulted in better FG, and with those of Pinchasov and Nir (1992), Su and Jones (1993) and Zollitsch et al. (1997), where diets containing saturated fat showed poorer FG than those containing polyunsaturated fats.

Body composition of birds from experiment 1 is shown in Table 4.3. Total gross energy, and percentage of body and carcass fat was not significantly affected by treatments ($P > 0.05$), although birds fed the diet with no supplemental fat showed the lowest values, and those fed tallow showed the highest values. Percentage of protein and ash were higher for birds fed the diet with no supplemental fat ($P < 0.05$). Differences between treatments with supplemental fat were not significant ($P > 0.05$).

Abdominal fat pad values of both experiments are shown in grams and percentage of body weight in Table 4.4. Birds fed sunflower and linseed oils showed less AF than those fed tallow or olive oil. Differences were greater in experiment 2, which suggests that they increase with age and body weight. This is in agreement with other experiments in which AF was reduced with polyunsaturated with respect to saturated or monounsaturated fatty acids (Sanz et al., 1999; Crespo and Esteve-Garcia, 2001). Values of the analysed SFD are shown in Table 4.5. Mesenteric fat showed the highest value in birds fed tallow diets, and the difference was significant with respect to sunflower or linseed oils ($P < 0.05$). Birds fed olive oil deposited more fat in the neck region than birds fed linseed oil ($P < 0.05$).

In birds fed tallow, sartorial fat presented the highest value followed by those fed olive, linseed and sunflower oils. In this depot differences were statistically significant at the $P = 0.07$ level. Sum of all analysed fat depots (AF and SFD) was strongly influenced by dietary fat ($P < 0.01$). Thus, birds fed sunflower or linseed oils deposited less fat in these fat depots than those fed tallow or olive oil. Total reduction of these fat depots in birds fed sunflower or linseed oils accounted for 34.0 ± 7.7 and 27.6 ± 7.7 grams with respect to those fed tallow, respectively. Abdominal fat reduction in the same treatments represented 68 and 60% of the total reduction of analysed fat depots, respectively. Assuming that AF in Experiment 1 is reduced in the same proportion with respect to the other SFD (not analysed in this experiment), then reduction of SFD would have been about 3 and 8 g for birds

fed sunflower and linseed oils, respectively. These values are similar to those observed in carcass fat reduction (without abdominal fat) in broilers fed linseed oil with respect to those fed tallow (since birds fed tallow and linseed oil resulted in the same body weight).

Broilers fed sunflower presented slightly higher body weight than those of the other treatments; the effect in grams on total carcass fat cannot be observed, but it was found using values as percentages. These results suggest that diets rich in polyunsaturated fatty acid reduce fat content of analysed fat depots (AF and SFD), which represents about 20% of total body lipids, but no overall effect is expected to be found in the remainder body fat (skin, visceral, feather, skeleton or the remainder carcass fat) which represents about 75% of total body lipids (Nir et al., 1988). Therefore, reduction in SFD and AF would account for the reduction in total body fat of birds in Experiment 1. If a similar effect to that observed in the analysed fat depots had been produced in the remainder carcass fat, which represents $\frac{3}{4}$ of total body fat, then reduction in total body fat between birds fed tallow and those fed sunflower or linseed oils would have been fairly higher than that observed in the first experiment (more than 60 grams in total body fat), and more likely to be statistically significant. In the experiment of Sanz et al. (2000a), total body fat of birds fed tallow was statistically different from that of birds fed sunflower, and accounted for about 27 grams. This reduction is similar to that observed in fat depots in our second experiment, suggesting that body fat reduction in experiment of Sanz et al. was due to the reduction in fat content of fat depots but not to the reduction in the remainder carcass fat. These values are similar to those of Cahaner et al. (1986), who found that reductions of fat depots in chickens selected against abdominal fat were not accompanied by a reduction in the remainder carcass fat.

Regression equations of carcass fat (total body fat excluding abdominal fat) and total body fat (including abdominal fat) with respect to abdominal fat are shown, per treatment, in Table 4.6. Both variables were directly correlated with abdominal fat and a high percentage of body and carcass fat variability could be attributed to abdominal fat variations, in agreement with Pfaff and Austic (1976) except for broilers fed tallow. In these birds correlation coefficients were 0.44 and 0.25 for body and carcass fat, respectively, and slopes always presented the lowest values with respect to the rest. Thus, when treatments with no supplemental fat and treatments with olive, sunflower and linseed oils were adjusted to the same regression equation, a higher correlation coefficient was obtained ($R^2 = 0.73$ and 0.63 for body and carcass fat, respectively) than when diets with tallow were included in the model ($R^2 = 0.69$ and 0.56 for body and carcass fat, respectively). This suggests that in birds fed tallow, lipids are deposited preferentially in abdominal fat depot. Thus, in these birds, body fat accretion is not as closely associated to abdominal fat accretion as in the other treatments.

Regression equations of the three analysed fat depots with respect to abdominal fat are shown in Table 4.7. Only mesenteric fat of broilers fed tallow was not significantly correlated with abdominal fat (Figure 4.1). This is in agreement with Cahaner et al. (1986), who found that mesenteric fat showed lower correlation with abdominal fat than the other analysed fat depots. In the rest of depots all treatments were adjusted to the same linear function. Regression analysis of sum of analysed fat

depots with respect to abdominal fat showed a high correlation in all treatments ($R^2 = 0.81$) except in broilers fed tallow, due to the effect of mesenteric fat in these birds. Thus, variability of fat depots in all treatments is highly correlated with abdominal fat variations except for mesenteric fat in broilers fed tallow. In these birds, mesenteric fat showed the highest value with respect to the other treatments, and variability of this fat depot was not dependent of variations in abdominal fat ($R^2 = 0.0025$). These results suggests that growth pattern of fat depots was different for birds fed tallow diets than for birds fed the other diets. Differences in fat deposition between broilers and layer strains seem to be related to the different activity of lipoprotein lipase (LPL) (Griffin et al., 1991), and studies in broilers have shown different activities of LPL in different fat depots (Butterwith, 1989) being higher in abdominal fat than in the rest of fat depots. Furthermore, this enzyme in abdominal fat of rats seems to have higher affinity towards saturated fatty acids (Sato et al., 1999). This suggests that LPL could play a role in the different growth of fat depots in birds fed tallow diets with respect to those fed the other dietary fats.

10.5. CONCLUSIONS

Results of this study suggest that size of separable fat depots can be modified by dietary fatty acid profile in the sense that fats rich in polyunsaturated fatty acids produce smaller fat depots than those rich in saturated or monounsaturated fatty acids. Our results suggest that this effect is not produced in the rest of body lipids.

The growth pattern of fat depots can be modified by dietary fat, suggesting that distribution of dietary fat within adipose tissues depends of the fatty acid profile. Thus, birds fed diets rich in saturated fatty acid from animal origin tend to deposit proportionally more fat in abdominal and mesenteric fat depots than in the rest of the body adipose tissues.

10.6. ACKNOWLEDGEMENTS

This project has been supported by INIA (Instituto Nacional Investigación Agraria, of Spanish Government) (project number SC 97-045 and fellowship 1997-2000), and CIRIT (of Catalanian Government) (Quality Research Group with reference number GRQ93-9804).

10.7. REFERENCES

- Alao, S. J., and D. Balnave, 1984. Growth and carcass composition of broilers fed sunflower oil and olive oil. *Br. Poult. Sci.* 25:209-219.
- Association of Official Analytical Chemists, 1990. *Official Methods of Analysis*. 15th ed. AOAC, Washington, DC.
- Awad, A. B., L. L. Bernerdis, and C. S. Fink, 1990. Failure to demonstrate an effect of dietary fatty acid composition on body weight, body composition and parameters of lipid metabolism in mature rats. *J. Nutr.* 120:1277-1282.
- Blake, W. L., S. D. Clarke, 1990. Suppression of rat hepatic fatty acid synthase and S14 gene transcription by dietary polyunsaturated fat. *J. Nutr.* 120:1727-1729.
- Butterwith, S. C., 1989. Contribution of lipoprotein lipase activity to the differential growth of three adipose tissue depots in young broiler chickens. *Br. Poult. Sci.* 30:927-933.
- Cahaner, A., Z. Nitsan, and I. Nir, 1986. Weight and fat content of adipose and nonadipose tissues in broilers selected for or against abdominal adipose tissue. *Poult. Sci.* 65:215-222.
- Crespo, N., and E. Esteve-Garcia, 2001. Dietary fatty acid profile modifies abdominal fat deposition in Broiler Chickens. *Poultry Sci.* 80:71-78.
- Cunnane, S. C., M. J. Anderson, 1997. The majority of dietary linoleate in growing rats is b-oxidized or stored in visceral fat. *J. Nutr.* 127:146-152.
- Deaton, J. W., and B. D. Lott, 1985. Age and dietary energy effect on broiler abdominal fat deposition. *Poult. Sci.* 64:2161-2164.
- Donalson, W. E., 1985. Lipogenesis and body fat in chicks: effects of calorie-protein ratio and dietary fat. *Poult. Sci.* 64:1199-1204.
- Folch, J., M. Lees, and G. H. Sloan-Stanley, 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem.* 226:497-507.
- Griffin, H.D., D. Windsor, and C. Goddard, 1991. Why are young broiler chickens fatter than layer-strain chicks? *Comp. Biochem. Physiol.* 100A:205-210.
- Nir, I, Z. Nitsan, and S. Keren-Zvi, 1988. Fat deposition in birds. Pages 141-174 in: *Leanness in domestic birds. Genetic, metabolic and hormonal aspects*. B. Leclercq and C. C. Whitehead ed. Butterwoths, London.
- Pfaff, F. E., and R. E. Austic, 1976. Influence of diet on development of the abdominal fat pad in the pullet. *J. Nutr.* 106:443-450.
- Pinchasov, Y., and I. Nir, 1992. Effect of dietary polyunsaturated fatty acid concentration on performance, fat deposition, and carcass fatty acid composition in broiler chickens. *Poult. Sci.* 71:1504-1512.
- Sanz, M., A. Flores, P. Pérez de Ayala, and C. J. López-Bote, 1999. Higher lipid accumulation in broilers fed on saturated fats than in those fed on unsaturated fats. *Br. Poult. Sci.* 40:95-101.

- Sanz, M., A. Flores, and C. J. López-Bote, 2000a. The metabolic use of energy from dietary fat in broilers is affected by fatty acid saturation. *Br. Poult. Sci.* 41:61-68.
- Sanz, M., C. J. López-Bote, D. Menoyo, and J. M. Bautista, 2000b. Abdominal fat deposition and fatty acid synthesis are lower and b-oxidation is higher in broiler chickens fed diets containing unsaturated rather than saturated fat. *J. Nutr.* 130:3034-3037.
- SAS Institute, 1992. *SAS User's guide: Statistics*. SAS Institute Inc., Cary, NC.
- Sato, K., T. Takahashi, Y. Takahashi, H. Shiono, N. Katoh, and Y. Akiba, 1999. Preparation of chylomicrons and VLDL with monoacid-rich triacylglycerol and characterization of kinetic parameters in lipoprotein lipase-mediated hydrolysis in chickens. *J. Nutr.* 129:126-131.
- Snedecor, G. W., and W. G. Cochran, 1980. *Statistical methods*. 7th ed. Iowa State University Press, Ames, IA.
- Su, W., and P. J. H. Jones, 1993. Dietary fatty acid composition influences energy accretion in rats. *J. Nutr.* 123:2109-2114.
- Zollitsch, W., W. Knaus, F. Aichinger, and F. Lettner, 1997. Effects of different dietary fat sources on performance and carcass characteristics of broilers. *Anim. Feed Sci. Technol.* 66:63-73.

10.8. TABLAS Y FIGURAS TRABAJO EXPERIMENTAL 2

Table 4.1. Ingredients, nutrient composition and fatty acid profile of experimental diets¹

Ingredients	Experiment 1					Experiment 2				
	B	T	OO	SO	LO	T	OO	SO	LO	
Wheat	68.7	55.2	55.3	55.3	55.3	58.2	58.3	58.3	58.3	
Soybean meal (48% CP)	26.8	31.1	31.1	31.1	31.1	26.9	27	27	27	
Ext. Soybean Int.	-	-	-	-	-	0.2	0.1	0.1	0.1	
Tallow	-	10	-	-	-	10	-	-	-	
Olive oil	-	-	10	-	-	-	10	-	-	
Sunflower oil	0.5	0.03	-	10	-	-	-	10	-	
Linseed oil	-	-	-	-	10	-	-	-	10	
D,L-Methionine	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.29	0.29	0.29	0.29	
L-Lysine	0.23	0.13	0.13	0.13	0.13	0.25	0.26	0.26	0.26	
L-Threonine	0.03					0.06	0.06	0.06	0.06	
Calcium carbonate	1.64	1.35	1.3	1.3	1.3	1.79	1.77	1.77	1.77	
Dicalcium Phosphate	1.14	1.26	1.25	1.25	1.25	1.62	1.62	1.62	1.62	
Salt	0.4	0.32	0.32	0.32	0.32	0.31	0.31	0.31	0.31	
Vitamin and mineral premix ²	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	
Calculated metabolizable energy (kcal/kg)	2,826	3,300	3,300	3,300	3,300	3,300	3,300	3,300	3,300	
Analysed nutrient content										
Crude protein (%)	21.2	21.6	21.9	21.8	21.7	20.5	20.7	21.0	20.6	
Lipid content (%)	3.36	11.9	11.5	11.6	12.0	10.9	11.0	10.8	10.6	
Crude fiber (%)	3.1	2.7	2.8	2.7	2.7	2.8	2.7	2.4	2.5	
Dry matter (%)	89.28	91.0	91.1	91.2	91.5	90.1	90.6	90.5	90.8	
Fatty acid profile (%) ³										
SFA	17.2	43.1	17.3	11.9	11.0	44.2	17.0	11.9	10.5	
UFA	82.8	56.9	82.7	88.1	89.0	55.8	83.0	88.1	89.5	
MUFA	19.2	38.1	61.8	22.9	18.0	39.8	63.0	26.1	17.5	
PUFA	63.6	18.8	20.9	65.2	71.0	16.0	19.9	61.9	71.9	
Total n9	18.1	34.1	58.7	22.0	17.1	35.3	59.3	25.1	16.6	
Total n6	58.0	17.1	19.1	64.1	22.1	14.2	18.4	60.9	23.4	
Total n3	5.6	1.7	1.7	1.1	48.9	1.8	1.6	1.0	48.6	

¹ B = basal diet (without supplemental fat); T = tallow diet; OO = olive oil diet; SO = sunflower oil diet; LO = linseed oil diet. Values are means of 2 determinations.

² Composition of vitamin and mineral premix: 1 Kg of feed contains: Vitamin A, 12000 UI; Vitamin D₃, 5000 UI; Vitamin E, 30 mg; Vitamin K₃, 3 mg; Vitamin B₁, 2.2 mg; Vitamin B₂, 8 mg; Vitamin B₆, 5 mg; Vitamin B₁₂, 11 µg; Folic acid, 1.5 mg; Biotin, 150 µg; Calcium pantothenate, 25 mg; Nicotinic acid, 65 mg; Mn, 60 mg; Zn, 40 mg; I, 0.33 mg; Fe, 80 mg; Cu, 8 mg; Se, 0.15 mg; and Ethoxyquin, 150 mg.

³ SFA = Saturated fatty acids; UFA = Unsaturated fatty acids; MUFA = Monounsaturated fatty acids; PUFA = Polyunsaturated fatty acids.

Table 4.2. Performance parameters¹

Treatment ^c	Experiment 1 ³					Experiment 2 ⁴				
	Initial weight (g)	Final weight (g)	Weight gain (g / d)	Feed intake (g / d)	Feed:Gain ratio	Initial weight (g)	Final weight (g)	Weight gain (g / d)	Feed intake (g / d)	Feed:gain ratio
B	890	2,111 ^b	61.0 ^b	136	2.23 ^a					
T	894	2,224 ^a	66.4 ^{ab}	145	2.19 ^{ab}	1014	2,828	69.8	156	2.24
OO	893	2,271 ^a	68.8 ^a	133	1.93 ^c	981	2,786	69.4	139	2.00
SO	897	2,301 ^a	70.2 ^a	139	1.98 ^c	963	2,739	68.3	142	2.09
LO	918	2,227 ^a	65.5 ^{ab}	133	2.04 ^{bc}	994	2,816	70.1	142	2.04
Root MSE ⁵	26.3	123.9	5.83	14.4	0.176	41.3	165.2	5.56	13.9	0.2

¹ Values are means of 10 determinations. Means within a column lacking a common superscript differ statistically ($P < 0.05$)

² B = basal diet (without supplemental fat); T = tallow diet; OO = olive oil diet; SO = sunflower oil diet; LO = linseed oil diet.

³ Experimental period was from 28 to 48 days.

⁴ Experimental period was from 28 to 53 days.

⁵ MSE = Mean standard error.

Table 4.3. Experiment 1. Final weight and body composition¹

Treatment ²	Final weight (g)	GE ³ cal/g	Body fat		Carcass fat ⁴		Crude protein		Ash		Moisture	
			%	g	%	g	%	g	%	g	%	g
B	2,111 ^b	1,969	11.1	234	10.0	210 ^b	20.5 ^a	433 ^a	2.42 ^a	51.1 ^{ab}	66.2	1,396
S	2,224 ^a	2,142	13.2	293	11.4	253 ^a	18.7 ^b	416 ^b	2.17 ^b	48.4 ^{bc}	65.6	1,460
OO	2,271 ^a	2,118	12.7	290	11.0	252 ^a	19.1 ^b	432 ^a	2.09 ^b	47.2 ^c	66.0	1,497
SO	2,301 ^a	2,094	12.9	298	11.3	260 ^a	18.8 ^b	432 ^a	2.26 ^b	52.0 ^a	65.9	1,514
LO	2,227 ^a	2,126	12.5	277	11.0	245 ^a	18.9 ^b	421 ^{ab}	2.09 ^b	46.5 ^c	66.0	1,469
Root MSE ⁵	123.9	154.5	1.62	37.9	1.34	31.5	0.620	13.7	0.163	3.47	1.53	35.6

¹ Values are means of 10 determinations. Means within a column lacking a common superscript differ statistically ($P < 0.05$)

² B = basal diet (without supplemental fat); T = tallow diet; OO = olive oil diet; SO = sunflower oil diet; LO = linseed oil diet.

³ GE = Gross energy.

⁴ Carcass fat = Total body fat without abdominal fat.

⁵ MSE = Mean standard error.

Table 4.4. Abdominal fat of broilers from Experiments 1 and 2¹

Treatment ²	Experiment 1 ³		Experiment 2 ⁴	
	(g)	(%)	(g)	(%)
B	28.3 ^c	1.35 ^d		
T	47.0 ^a	2.09 ^a	79.2 ^a	2.87 ^a
OO	43.1 ^{ab}	1.89 ^{ab}	76.3 ^a	2.73 ^{ab}
SO	41.3 ^{ab}	1.77 ^{abc}	55.9 ^b	2.04 ^c
LO	36.2 ^{bc}	1.64 ^{bc}	62.4 ^b	2.31 ^{bc}
Root MSE ⁵	10.34	0.456	15.24	0.561

¹ Values are means of 10 determinations. Means within a column lacking a common superscript differ statistically ($P < 0.05$)

² B = basal diet (without supplemental fat); T = tallow diet; OO = olive oil diet; SO = sunflower oil diet; LO = linseed oil diet.

³ Bird age of determination was 48 days.

⁴ Bird age of determination was 48 days.

⁵ MSE = Mean standard error.

Table 4.5. Fat depots of broilers from Experiment 2¹

Treatment ²	T	OO	SO	LO	Root MSE ⁵
Mesenteric fat (g)	22.9 ^a	21.8 ^{ab}	15.5 ^c	17.2 ^{bc}	5.480
Mesenteric fat (%)	0.82 ^a	0.77 ^{ab}	0.57 ^c	0.63 ^{bc}	0.192
Neck fat (g)	14.5 ^{ab}	17.4 ^a	14.0 ^{ab}	11.2 ^b	4.26
Neck fat (%)	0.53 ^{ab}	0.63 ^a	0.52 ^{ab}	0.41 ^b	0.157
Sartorial fat (g)	7.92	6.66	5.55	6.22	1.979
Sartorial fat (%)	0.29	0.24	0.20	0.23	0.075
Total SFD ³ (g)	45.3 ^a	45.9 ^a	35.1 ^b	34.5 ^b	9.280
Total SFD (%)	1.64 ^a	1.64 ^a	1.29 ^b	1.27 ^b	0.331
Abdominal fat (g)	79.2 ^a	76.3 ^a	55.9 ^b	62.4 ^b	15.240
Abdominal fat (%)	2.87 ^a	2.73 ^{ab}	2.04 ^c	2.31 ^{bc}	0.561
Total fat depots ⁴ (g)	124.5 ^a	122.2 ^a	90.5 ^b	96.9 ^b	24.20
Total fat depots (%)	4.51 ^a	4.37 ^a	3.30 ^b	3.59 ^b	0.857

¹ Values are means of 10 determinations. Means within a row lacking a common superscript differ statistically ($P < 0.05$)

² B = basal diet (without supplemental fat); T = tallow diet; OO = olive oil diet; SO = sunflower oil diet; LO = linseed oil diet.

³ SFD = Separable fat depots other than abdominal fat.

⁴ Total fat depots = SFD + abdominal fat.

⁵ MSE = Mean standard error.

Table 4.6. Regression equations of birds from Experiment 1. X = abdominal fat pad in grams

Y value	Treatment ¹	Equation	R ²	Root MSE ³	Sig. ⁴
Body fat (g)	B, T, OO, SO, LO	$y = 3.68 x + 135$	0.69	30.48	***
	B	$y = 3.71 x + 134$	0.64	18.77	**
	T	$y = 2.53 x + 178$	0.44	34.47	*
	OO	$y = 3.96 x + 119$	0.72	42.28	**
	SO	$y = 4.48 x + 108$	0.67	30.56	**
	LO	$y = 4.63 x + 106$	0.57	27.26	**
	B, OO, SO, LO	$y = 3.99 x + 125$	0.73	29.40	***
Carcass fat ² (g)	B, T, OO, SO, LO	$y = 2.79 x + 135$	0.56	30.43	***
	B	$y = 2.82 x + 134$	0.51	18.74	**
	T	$y = 1.64 x + 179$	0.25	34.59	N.S.
	OO	$y = 3.08 x + 120$	0.61	42.29	**
	SO	$y = 3.62 x + 107$	0.58	30.10	**
	LO	$y = 3.71 x + 107$	0.46	27.25	*
	B, OO, SO, LO	$y = 3.11 x + 106$	0.63	29.29	***

¹ B = basal diet (without supplemental fat); T = tallow diet; OO = olive oil diet; SO = sunflower oil diet; LO = linseed oil diet.

Regressions have been made with 10 values for each variable.

² Carcass fat = Total body fat without abdominal fat.

³ MSE = Mean standard error.

⁴ Significance of the slope: * $P < 0.1$; ** $P < 0.05$; *** $P < 0.001$.

Table 4.7. Regression equations of birds from Experiment 2. X = abdominal fat pad in grams.

Y value	Treatment ¹	Equation	R ²	Root MSE ³	Sig ⁴
Mesenteric fat (g)	T	$y = -0.013x + 24.0$	0.0025	3.59	N.S.
	OO, SO, LO	$y = 0.33x - 3.47$	0.68	4.06	***
Neck fat (g)	T, OO, SO, LO	$y = 0.18x + 1.64$	0.46	3.53	***
Sartorial fat (G)	T, OO, SO, LO	$y = 0.08x + 1.29$	0.42	1.62	***
Total SFD ² (g)	T	$y = 0.27x + 23.6$	0.41	4.52	**
	OO, SO, LO	$y = 0.61x - 1.07$	0.81	5.38	***

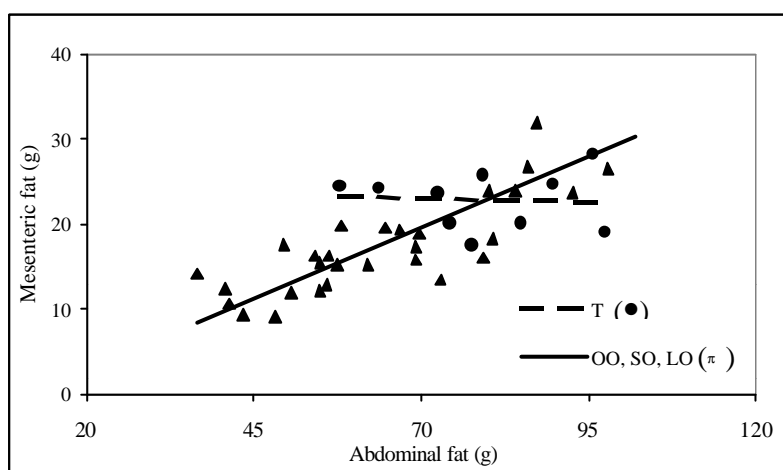
¹ T = tallow diet; OO = olive oil diet; SO = sunflower oil diet; LO = linseed oil diet. Regressions have been made with 10 values for each variable.

² SFD = Separable fat depots other than abdominal fat.

³ MSE = Mean standard error.

⁴ Significance of the slope: * $P < 0.1$; ** $P < 0.05$; *** $P < 0.001$.

Figure 4.1: Linear regression of the mesenteric fat with respect to abdominal fat of birds from Experiment 2.



T = tallow diet; OO = olive oil diet; SO = sunflower oil diet; LO = linseed oil diet.

Corresponding equations are those of mesenteric fat in Table 4.7.

11. TRABAJO EXPERIMENTAL 3

Nutrient and Fatty Acid Deposition in Broilers Fed Different Dietary Fatty Acid Profiles

N. Crespo and E. Esteve-Garcia¹

Institut de Recerca i Tecnologia Agroalimentàries (I.R.T.A.), Department of Animal Nutrition, Centre de Mas Bové, Apartat 415, 43280 Reus (Tarragona), Spain. Tel. +34 977 34 32 52. Fax. +34 977 34 40

55.

11.1. ABSTRACT

The aim of this study was to determine the effect of different dietary fatty acid profiles on efficiency of energy, fat, nitrogen, and fatty acid deposition on broiler chickens. Sixty female broiler chickens were fed a basal diet without additional fat, or with other 4 diets with different fats (tallow, olive, sunflower, and linseed oils) at 10%, from 28 to 48 d of age. Among broilers fed diets with added fat, those fed linseed oil presented lower abdominal fat (in grams and percentage) than those fed tallow ($P < 0.05$). Fat losses were slightly higher for birds fed linseed oil, and nitrogen efficiency lower in those fed tallow ($P < 0.05$). However, there were not significant differences in energy deposition between broilers fed diets with added fat. Fatty acid balance showed higher values of fatty acid oxidation during the experimental period in broilers fed linseed oil (48.2 g), followed by those fed sunflower oil (23.2 g). Contribution of endogenous fat synthesis to total body fat deposition was minimal in birds fed diets with added fat accounting to 3, 1.2, 8.5 and 7.5 g for broilers fed tallow, olive, sunflower and linseed oils, respectively. This reflects lipogenesis inhibition by dietary fat addition. Interestingly, between broilers fed diets with added fat, higher values of fatty acids from endogenous synthesis were found in broilers fed diets rich in PUFA. Results suggest that reduction of abdominal fat in broilers fed linseed oil seems to be consequence of a higher lipid oxidation despite the higher synthesis of endogenous fatty acids.

(Key words: broiler, dietary fatty acid profile, energetic balance, fatty acid balance)

11.2. INTRODUCTION

Several studies suggest that, either in avian as in mammals, polyunsaturated fatty acids (PUFA) produce an inhibition of lipid synthesis (Wilson et al., 1986,1990; Blake and Clarke, 1990; Ntambi, 1991; Sanz et al., 2000b) an increase in fatty acid oxidation (Shimomura et al., 1990; Madsen et al., 1999; Sanz et al., 2000b; Cunane and Anderson, 1997) and diet-induced thermogenesis (Takeuchi et al., 1995). These effects could explain why these fatty acids reduce abdominal fat (Crespo and Esteve-Garcia, 2001a), fat in other fat depots (Crespo and Esteve-Garcia, 2001b) and, consequently, total body fat (Sanz et al., 2000a) when compared to saturated or monounsaturated fats.

Several mechanisms seem to be involved in lower energetic efficiency of PUFA in mammals. Preferential oxidation of PUFA in peroxisomes prior to their oxidation in mitochondria leads to higher energy losses (Clarke, 2000). Furthermore, PUFA are involved in the induction of uncoupling proteins (UCP) in the mitochondria. UCP-3 is restricted to skeletal muscle in rats and is twofold increased by fish oil (Baillie et al., 1999). These mechanisms would produce lower deposition of dietary energy in animals fed PUFA than in those fed diets rich in SFA. This energy could be dissipated or could be used to enhance protein deposition, as has been suggested by other authors (Sanz et al., 2000a). Different use of dietary energy for fat deposition, protein deposition or energy dissipation could be determined by performing a nutrient balance.

The aim of this study was to determine the effect of different dietary fatty acid profiles on nutrient and fatty acid balance in the broiler. Lower energetic efficiency of PUFA was expected to decrease energy deposition and to be reflected in fatty acid balance. Effect of different dietary fatty acids on nitrogen and fat retention was also studied in order to determine different use of dietary energy.

11.3. MATERIAL AND METHODS

11.3.1. Animals and Diets

Experimental diets were formulated according to the same criterion as previously described by Crespo and Esteve-Garcia (2001a). Four diets with 4 types of added fat (tallow, olive, sunflower and linseed oils), representing different profiles of fatty acids (saturated fatty acids (SFA), monounsaturated fatty acids (MUFA) and PUFA from n6 and n3 series) were used to conduct this experiment. Calculated metabolizable energy was 3,300 kcal / kg. An additional diet without supplemental fat (basal diet) and consequently with lower energy content (2,826 kcal / kg) was also used. Fatty acid profile of experimental diets is shown in Table 5.1.

One hundred day-old female broiler chickens of the Ross 308 strain were obtained from a commercial hatchery. They were placed in floor pens and fed a commercial starter diet with lard as fat source. Balance was designed to be performed during the last 20 before slaughtering on day 48. In order to avoid effect of experimental diets from Day 21 to 28, birds were fed a diet based on wheat and soybean meal without additional fat, during this period of time. On Day 28 of the Experiment, 48 birds

were weighed and distributed by weight in 8 groups, with 6 birds in each group. One animal of each group was killed by cervical dislocation and stored at -20°C until analysis (a total of 8 birds). The rest of the birds (40 chickens) were distributed by treatments with 1 bird of the same weight group for each treatment (a total of 8 birds per treatment belonging to each weight group). Two additional broilers per treatment were selected from the rest of birds in order to ensure a minimum of 8 and maximum of 10 replicas per treatment. Birds were placed in individual cages and fed the experimental diets until day 48. Feed and water were provided for *ad libitum* consumption. Feed intake during the experimental period was recorded. From Day 28 to 48, whole droppings were collected daily and individually per bird, and were stored at -20°C . At the end of the experimental period, whole frozen dropping samples of each chicken were weighed and homogenised in a blade cutter for 2 minutes. A representative sample from each bird was taken, freeze-dried and reground for analysis. On Day 48, birds were fasted during 12 hours, weighed and killed by cervical dislocation. After abdominal fat was determined, each whole bird was stored at -20°C and then cut into several pieces and minced in a blade cutter⁹ for 5 minutes. The whole sample was refrozen, freeze-dried, and reground. A representative sample was taken from each animal for posterior analysis. Broilers killed initially were also minced and freeze-dried in the same way. The animal facilities, working protocol and killing methods were approved by the IRTA Ethical Committee.

11.3.2. Analytical Determinations

Dry matter, ash content, moisture and crude protein of all collected samples were determined as outlined by AOAC (1990). Lipid content was determined by the Folch method (Folch et al., 1957) and gross energy determined using an adiabatic calorimetric bomb¹⁰. Carcass fat (whole body fat, including viscera, skin and feathers) was determined subtracting lipid content of abdominal fat (including fat surrounding gizzard, Bursa of Fabricius, cloaca and adjacent muscles) from total body fat. Lipid percentage of abdominal fat pad was assumed to be 87.9% and equal for all treatments, as previously determined (Crespo and Esteve-Garcia, 2001a). Fatty acid profile of diets, broilers and faeces was determined as previously (Crespo and Esteve-Garcia, 2001a). Analytical results of initial broilers were used to estimate de initial body composition of experimental birds. Balance of energy and body components (protein, fat and fatty acids) was done as follows (Figure 5.1). Absorbed nutrients and fatty acids were estimated as the difference between ingested and excreted values. Gained nutrients were estimated as the difference between final and initial body composition. Nutrient losses were estimated as the difference between absorbed and gained values. Nutrient efficiency was calculated as percentage of gained nutrients respect to absorbed nutrients. In the case of the energy balance, absorbed energy corresponded to apparent metabolizable energy (AME). Energy cost of

⁹ Model CRI-20, Castellvall, Apartat 70, Castellar del Vallès, Barcelona, Spain

¹⁰ IKA-Kalorimetersystem C4000 A Adiabatisch. IKA-Analysentechnik GmbH, Postfach 1240, D-7843 Heitersheim, Germany.

protein gain was calculated taking a calorimetric value of 5.9 kcal / g of protein (Sibbald and Wolynetz, 1985) and assuming a cost of 1.25 kcal per 1 kcal of protein storage (Pullar and Webster, 1977). Energy cost for fat deposition was assumed to be 0.36 kcal / kcal for birds fed the diet without supplemental fat, and 0.16 kcal / kcal for birds fed diets with added fat (Pullar and Webster, 1977; Rothwell et al., 1985). Heat losses were calculated subtracting energy cost of protein and fat gain from total energy losses (Iossa et al., 2000). In the nitrogen balance, absorbed nitrogen was assumed to be equivalent to gained nitrogen, and nitrogen efficiency was determined as percentage of gained nitrogen respect to nitrogen intake.

11.3.3. Statistical Analysis

All values were subjected to one-way ANOVA by using the General Linear Model procedure of SAS (SAS Institute, 1992). Body weight group was added to the model as block factor in order to avoid variability in body composition due to differences in initial body weight. Final body weight was included as covariable factor when needed. When the F-test for treatments was significant at $P < 0.05$ in the ANOVA table, means were compared for significant differences using Duncan's multiple-range test of the same statistical package. In the case of fatty acid balance, percentage of retained saturated and n9 fatty acids in animals fed the basal diet showed very different standard deviation respect to those fed the diets with added fat. This was due to the endogenous synthesis of these fatty acid families in these birds. As the main purpose of this experiment was to compare treatments with added fat, percentage of retained SFA and n9 fatty acids from basal treatment were excluded from the statistical analysis.

11.4. RESULTS AND DISCUSSION

Performance parameters were discussed in Crespo and Esteve-Garcia (2001b). Body composition and abdominal fat pad values of birds are shown in Table 5.2. Total gross energy, and percentage of body and carcass fat were not significantly affected by treatments ($P > 0.05$). Protein content was lower for birds fed tallow although differences were only significant for total body protein content in grams. Percentage of protein and ash were higher for birds fed the basal diet ($P < 0.05$) due to the lower body weight of these birds. Thus, differences in body weight of broilers fed the basal diet respect to those fed the diets with added fat were due to lower body fat and moisture contents. Total protein deposition was similar to the rest of the treatments, suggesting that the energy content of the diet did not limit protein deposition.

Birds fed sunflower and linseed oils showed less abdominal fat than those fed tallow or olive oil, although statistical differences were only found between broilers fed tallow and those fed linseed oil. This is in agreement with other experiments in which abdominal fat was reduced with polyunsaturated

fatty acids respect to saturated or monounsaturated fatty acids (Sanz et al., 1999; Crespo and Esteve-Garcia, 2001a). However, in this experiment differences in abdominal fat were not as great in absolute values as those found in Crespo and Esteve-Garcia (2001a). These different results could be due to the greater body weight of birds in the previous experiment, because percentage of reduction was similar in both experiments.

Birds fed tallow showed the higher values of gross energy intake than the rest or treatments (Table 5.3). This was counteracted by higher faecal energy losses, resulting in an equal AME for all treatments. Thus, percentage of AME was lower for the diets added tallow, although differences were not significant. Although not significantly, our results tend to follow results obtained by other authors (Fuller and Rendon, 1977; Allen et al., 1997; Dvorin et al., 1998) who found lower digestibility and lower ME of diets with higher SFA content respect to those with higher percentages of PUFA. Total energy gain and energy losses did not statistically differ between treatments, although birds fed the basal diet showed lower energy gain and higher energy losses per 100 g of weight gain respect to those fed diets with added fat, leading to a lower energetic efficiency. Although these values were not statistically significant, other authors have found lower energetic efficiency of diets without added fat respect to those with added fat (Carew et al., 1964; Fuller and Rendon, 1977 and 1979; Nitsan et al., 1997). This could be consequence of the higher energy cost of protein and fat gain. Higher protein gain per 100 g of weight gain and endogenous synthesis of fatty acid resulted in higher energy cost respect to broilers fed diets with added fat in which percentage of protein gain was lower and fat gain was due mainly to direct deposition from dietary fat. Consequently, energy losses as heat production respect to total energy losses were statistically lower ($P < 0.05$) in birds fed the basal diet respect to those fed the high fat diets. This suggests that increasing dietary fat inclusion produces higher derivation of energy to heat production that, in turn, causes worse efficiency of fat deposition. The same effect was also found in previous experiments in rats (Iossa et al., 2000). In our case, other factors could be implicated, as can be different body weight between broilers fed the basal diet and the diets with added fat. There were no significant differences in energy gain, energetic efficiency and energy losses between broilers fed diets with added fat. Different results were found in the experiment of Brue and Latshaw (1985), where broilers fed diets with tallow showed higher ME intake, higher energetic efficiency and higher energy deposition compared to those fed corn oil (rich in PUFA).

Broilers fed the basal diet ingested the lowest amount of fat and presented the lowest fat digestibility ($P < 0.05$) (Table 5.4) as also found by Fuller and Rendon (1979) and Nitsan et al. (1997). However, these birds showed negative values of fat losses and a percentage of fat efficiency much higher than 100%, indicating higher endogenous fat synthesis than broilers fed diets with added fat, in agreement with previous reports (Donaldson, 1985; Rosebrough et al., 1999). Birds fed tallow showed higher fat intake ($P < 0.05$) and higher faecal fat losses leading to the same absorbed fat and to lower digestibility ($P = 0.09$) respect to the rest of diets with added fat. Similar results were found by Dvorin et al. (1998) with diets with a high level of SFA. Fat gain per 100 g of weight gain was slightly lower for

broilers fed linseed oil respect to the other treatments with added fat, and this was concomitant with higher fat losses and lower percentage of fat efficiency. However, these differences were not statistically significant. Since protein gain was similar within treatments with added fat (Table 5.5), this low fat accretion in broilers fed linseed oil should have been reflected in energy accretion. However, due to the small difference or to the high individual variations, this slightly effect in fat balance may have not been detected in energy balance. However, this effect was observed by Sanz et al. (2000a) who obtained lower energy gain and higher heat losses in broilers fed sunflower oil respect to those fed a blend of lard and tallow.

Broilers fed the basal diet and diet with tallow ingested higher amount of dietary nitrogen than the rest of treatments ($P < 0.05$). However, only broilers fed the basal diet showed higher nitrogen gain per 100 g of weight gain ($P < 0.05$), leading to higher efficiency of nitrogen deposition respect to broilers fed tallow. Thus, although birds fed the tallow diet ingested more nitrogen than the rest of treatments with added fat, they did not increase nitrogen gain respect to broilers fed olive, sunflower or linseed oils, leading to lower nitrogen efficiency respect to birds fed the basal diet or diets with added olive or linseed oil ($P < 0.05$). Thus, increasing ingestion of nitrogen over required levels produce a decrease in nitrogen retention efficiency as previously reported by Geraert et al. (1990).

Fatty acid balance is shown in Table 5.6. Birds fed tallow ingested the highest amount of SFA. However, digestibility of SFA in these birds was lower than that of birds fed olive oil ($P < 0.05$) and slightly lower than that of birds fed sunflower or linseed oil. This suggests an improvement of SFA digestibility when vegetable oils with higher levels of unsaturated fatty acids are included in the diet (Sibbald and Kramer, 1980). SFA gain was higher in broilers fed tallow diet, due to the higher ingestion. However, percentage of saturated fatty acid gain respect to absorbed fatty acids was lower for these birds. High fatty acid oxidation is related to PUFA and not to SFA (as is discussed below). Therefore, this disappearance of SFA in broilers fed tallow is more probably due, in part, to elongation and desaturation processes leading to the formation of MUFA. In fact, broilers fed tallow presented negative values of n9 fatty acid oxidation that could be due to de novo endogenous synthesis or to elongation and desaturation of SFA. In the rest of the treatments percentage of retained SFA reached values above 100% suggesting endogenous synthesis of these fatty acids which was much higher in broilers fed the basal diet. Within treatments with added fat, broilers fed sunflower and linseed oil showed similar values of net endogenous synthesis accounting to 8.5 and 7.4 g (negative oxidation values), respectively. These values were only significantly different respect to broilers fed tallow and those fed the basal diet.

Ingestion of n9 fatty acids was higher for broilers fed olive oil. Digestibility of these fatty acids was equal between broilers fed diets with added fat. Only broilers fed olive oil presented higher digestibility of n9 fatty acids respect to those fed the basal diet ($P < 0.05$). N9 fatty acid gain was higher for birds fed olive oil, followed by broilers fed tallow. The lowest gain was for broilers fed sunflower and linseed oils, due to their lower ingestion. Percentage of gained n9 was similar for all treatments with added fat, although, as for SFA, broilers fed the diet with no supplemental fat presented the highest values of

percentage of n9 fatty acid gain and the lowest values of oxidation. Between broilers fed the diets with supplemental fat, those fed olive oil showed the highest values of n9 fatty acid oxidation, although differences were only significant with respect to birds fed tallow. Broilers fed tallow presented negative values of fatty acid oxidation suggesting some endogenous synthesis or derivation from SFA.

From total sum of negative oxidation values of saturated, n9 and n7 (data not shown) fatty acids, we can deduce that net endogenous fat synthesis in broilers fed diets with supplemental fat represents a low percentage of the total fat deposition. This sum accounts to 8.4, 3.3, 10.8, and 10.2 g for broilers fed tallow, olive, sunflower and linseed oils, respectively. Similar or slightly higher values for broilers fed sunflower and linseed oils respect to those fed tallow suggest similar or slightly higher net endogenous fat synthesis in birds fed diets rich in PUFA, which is in disagreement with studies showing inhibition of lipid synthesis by PUFA (Wilson et al., 1986; Blake and Clarke, 1990; Wilson et al., 1990; Ntambi, 1991; Sanz et al., 2000b).

Broilers fed sunflower oil ingested the highest amount and presented the highest digestibility of n6 fatty acids. Percentage of n6 fatty acid gain was lower for broilers fed linseed oil respect to the rest of treatments. This was due to the high oxidation of n6 fatty acids that occurred in these birds which was similar to that observed in broilers fed sunflower oil, despite the lower absorption, and higher ($P < 0.05$) than that observed in broilers fed the basal diet and diets with olive oil.

Broilers fed linseed oil presented the highest values of n3 fatty acid gain, digestibility and oxidation. However, in the rest of treatments, ingestion of n3 fatty acids was so low that measured values cannot be taken into account. In fact, values of n3 fatty gain and oxidation in birds fed the other treatments are not statistically different from zero. Thus, we cannot study n3 fatty acid behaviour in broilers fed diets rich in other families of fatty acids.

Results obtained in this experiments suggest that broilers fed linseed oil tend to oxidize more polyunsaturated fatty acids than those fed the other treatments. Several studies have shown that diets rich in PUFA enhance lipid oxidation (Shimomura et al., 1990; Madsen et al., 1999; Sanz et al., 2000b; Cunane and Anderson, 1997) being this oxidation higher for PUFA than for saturated fatty acids (Leyton et al., 1987). These effects seem to be related with the gene transcription regulation of enzymes involved in these mechanisms (Brandt et al., 1998; Clarke, 2000; Clarke, 2001). Binding of PUFA to the Peroxisome proliferator-activated Receptor (PPAR) leads to the induction of several hepatic, cardiac and skeletal muscle genes encoding proteins involved in lipid transport, peroxisomal oxidation and thermogenesis, and a decrease in the Sterol-regulatory element-binding protein-1 (SREB-1) seems to be related with the decrease of lipid synthesis by PUFA. Moreover, PUFA (and mainly those from n3 series) seem to enhance thermogenesis by inducing mitochondrial UCP (Baillie et al., 1999). Results in this experiment show more PUFA oxidation in birds fed linseed oil respect to those fed tallow or olive oil. However, broilers fed sunflower oil did not show the same effect than those fed linseed oil. This is in disagreement with results obtained by other investigators (Sanz et al., 2000b; Shimomura et al., 1990). However, Fu and Sinclair (2000) suggested that Guinea pigs fed diets with linolenic and linoleic acids tend to oxidize linolenic acid in a higher proportion than linoleic

acid while the latter tends to be deposited in tissues. Furthermore, biochemical studies suggest different mechanisms of action of n3 and n6 fatty acids. Different isoforms of PPAR seem to have different actions in lipid metabolism, and n3 and n6 fatty acids seem to activate these PPAR isoforms with different potency. Thus, PPAR α is related with the induction of peroxisomal enzymes, which are more strongly activated by n3 than by n6 fatty acids (Power and Nesholme, 1997). On the other hand, PPAR γ plays roles in the fat cell differentiation, the expression of lipoprotein lipase, fatty acid binding-protein and glucose transporter. This isoform seems to be activated more strongly by n6 fatty acids (Wolf, 1996; Mater et al., 1998). Thus, in this experiment reduction in abdominal fat in broilers fed linseed oil could be explained by the higher lipid oxidation and perhaps higher thermogenesis. In broilers fed sunflower oil, effect of PUFA has not been strong enough to produce a significant effect on total body fat deposition in difference to Sanz et al. (2000a) in whose experiment broilers fed sunflower oil presented lower abdominal and body fat than those fed diets rich in SFA.

Fatty acid composition of deposited body fat is presented in Table 5.7. Broilers fed the basal diet presented higher percentage of SFA and n9 fatty acids, and lower of n6 and n3 fatty acids than that observed in the diet. This effect was due to the endogenous synthesis that took place in these animals. In broilers fed tallow a reduction in percentage of SFA and an increase in n9 fatty acids respect to dietary fat percentage of these fatty acids was observed. This agrees with the higher disappearance of SFA fatty acids in these birds. The fact that percentage of all SFA had decreased and the main MUFA (C16:1n7, C18:1n9 and C18:1n7) had increased respect to the diet suggest that disappearance of SFA has been due in part to its elongation and desaturation to form MUFA. Thus, endogenous synthesis of n9 fatty acids observed in fatty acid balance (Table 5.6) could be consequence of a transformation of SFA to MUFA. In broilers fed olive oil, percentage of SFA was slightly higher and percentage of n9 slightly lower than that of the diet, in agreement with the negative value of SFA oxidation and positive value of n9 oxidation observed in the fatty acid balance for these birds, and the same happened in broilers fed sunflower oil. Also, according to results obtained in fatty acid balance, broilers fed linseed oil presented higher percentage of SFA and lower percentage of n6 and n3 fatty acids respect to the fatty acid profile of dietary fat.

Dietary fatty acid profile was reflected in broilers fed the treatments with added fat as found by other authors (Hulan et al. 1984; Ajuyah et al., 1991) (Table 5.8). The highest percentage of SFA was found in broilers fed tallow and the basal diet. While C14:0, C15:0 and C18:0 were in higher proportion in broilers fed tallow, C16:0 and C16:1n7 presented higher values in broilers fed the basal diet despite their lower presence in the diet, due to the endogenous synthesis. In birds fed olive oil SFA were substituted by oleic acid (C18:1n9). However, although C18:0 was lower in muscle and abdominal fat of birds fed olive oil than in those fed tallow, sunflower and linseed oil (Crespo and Esteve-Garcia, 2001a), percentage of C18:0 in total body fat of boilers fed olive oil was similar to that of broilers fed sunflower and linseed oils. This suggest that reduction of C18:0 in abdominal, breast and thigh fat in broilers fed olive oil respect those fed tallow, sunflower or linseed oils could be compensated by an increase in the remainder body fat. Broilers fed sunflower oil showed higher values of linoleic acid

(C18:2n6) and other n6 derivatives than the rest of the treatments. These fatty acids replaced SFA and MUFA respect to broilers fed tallow. The same effect was observed with n3 fatty acids in broilers fed linseed oil. Replacement of MUFA by n3 fatty acids was also found by Ajuyah et al. (1991). While stearic acid remained constant within abdominal, thigh and breast fat in broilers fed tallow, sunflower and linseed oil (Crespo and Esteve-Garcia, 2000a) this fatty acid decreased in body fat of broilers fed sunflower and linseed oil, respect to those fed tallow. Thus, stearic acid seems to have different behavior depending on the fatty acid profile of the diet. In diets rich in oleic acid, stearic acid tend to be deposited in carcass fat other than abdominal, breast and thigh fat, while in diets rich in PUFA, this fatty acid tend to be in higher proportions in abdominal, breast and thigh fat respect to the rest of the body fat. Despite the higher content of linoleic acid in diet with linseed oil respect to those with tallow or olive oil, n6 derivatives were found in higher amounts in broilers fed tallow or olive oil respect to those fed linseed oil, while linoleic acid was higher in broilers fed linseed oil. This effect reflects the competition for Δ -5 and Δ -6 desaturases between n3 and n6 fatty acids. For the same reason, broilers fed sunflower oil presented the lowest values of n3 derivatives.

11.5. CONCLUSIONS

Results of this experiment suggest that reduction in abdominal fat of broilers fed diets rich in PUFA (mainly of n3 series) respect to those fed diets rich in SFA or MUFA seems to be related with a higher fatty acid oxidation. However, apparent higher endogenous fatty acid synthesis in broilers fed sunflower and linseed oils is in disagreement with other studies that show inhibition of lipogenic enzymes by dietary PUFA. Thus, this effect should be confirmed by *in vivo* determinations of lipogenesis in broilers fed different dietary fatty acids.

11.6. ACKNOWLEDGEMENTS

This project has been supported by INIA (Instituto Nacional de Investigación Agraria, of Spanish Government) (project number SC 97-045 and fellowship 1997-2000), and CIRIT (of Catalanian Government) (Quality Research Group with reference number GRQ93-9804).

11.7. REFERENCES

- Ajuyah, A. O., K. H. Lee, R. T. Hardin, and J. S. Sim, 1991. Changes in the yield and in the fatty acid composition of whole carcass and selected meat portions of broiler chickens fed full-fat oil seeds. *Poult. Sci.* 70:2304-2314.
- Allen, C. M., K. J. McCracken, and M. R. Bedford, 1997. Effect of fat type, rate of wheat inclusion and enzyme supplementation on diet metabolisability and broiler performance. *Br. Poult. Sci.* 38:S25-S45.

- Association of Official Analytical Chemists, 1990. Official Methods of Analysis. 15th ed. AOAC, Washington, DC.
- Baillie, R. A., R. Takada, M. Nakamura, and S. D. Clarke, 1999. Coordinate induction of peroxisomal acyl-CoA oxidase and UCP-3 by dietary fish oil: a mechanism for decreased body fat deposition. *Prostaglandins, Leukotriens and Essential Fatty Acids* 60:351-356.
- Blake, W. L., and S. D. Clarke, 1990. Suppression of hepatic fatty acid synthase and S14 gene transcription by dietary polyunsaturated fat. *J. Nutr.* 120:225-231.
- Brandt, J. M., F. Djouadi, and D. P. Kelly, 1998. Fatty acids activate transcription of the muscle carnitine palmitoyltransferase I gene in cardiac myocytes via the peroxisome proliferator-activated receptor α . *J. Biol. Chem.* 273:23786-23792.
- Brue, R. N., and J. D. Latshaw, 1985. Energy utilization by the broiler chicken as affected by various fats and fat levels. *Poult. Sci.* 64:2119-2130.
- Carew, L. B., D. T. Hopkins, and M. C. Nesheim, 1964. Influence of amount and type of fat on metabolic efficiency of energy utilization by the chick. *J. Nutr.* 83:300-306.
- Clarke, S. D., 2000. Polyunsaturated fatty acid regulation of gene transcription: a mechanism to improve energy balance and insulin resistance. *Br. J. Nutr.* 83. Suppl. 1:S59-S66.
- Clarke, S. D., 2001. Polyunsaturated fatty acid regulation of gene transcription: a molecular mechanism to improve the metabolic syndrome. *J. Nutr.* 131:1129-1132.
- Crespo, N, and E. Esteve-Garcia, 2001a. Dietary fatty acid profile modifies abdominal fat deposition in broiler chickens. *Poult. Sci.* 80:71-78.
- Crespo, N, and E. Esteve-Garcia, 2001b. Dietary polyunsaturated fatty acids decrease fat deposition in separable fat depots but not in the remainder carcass. *Poult. Sci.* Submitted for publication.
- Cunnane, S. C., and M. J. Anderson, 1997. The majority of dietary linoleate in growing rats is β -oxidized or stored in visceral fat. *J. Nutr.* 127:146-152.
- Donaldson, W.E., 1985. Lipogenesis and body fat in chicks: Effects of calorie-protein ratio and dietary fat. *Poult. Sci.* 64:1199-1204.
- Dvorin, A., Z. Zoref, S. Mokady, and Z. Nitsan, 1998. Nutritional aspects of hydrogenated and regular soybean oil added to diets of broiler chickens. *Poult. Sci.* 77:820-825.
- Folch, J., M. Lees, and G. H. Sloan-Stanley, 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem.* 226:497-507.
- Fu, Z., and A. J. Sinclair, 2000. Increased α -linolenic acid intake increases tissue α -linolenic acid content and apparent oxidation with little effect on tissue docosahexaenoic acid in the Guinea pig. *Lipids* 35:395-399.
- Fuller, H. L., and M. Rendon, 1977. Energetic efficiency of different dietary fats for growth of young chicks. *Poult. Sci.* 56:549-557.

- Fuller, H. L., and M. Rendon, 1979. Energetic efficiency of corn oil and poultry fat at different levels in broiler diets. *Poult. Sci.* 58:1234-1238.
- Geraert, P. A., M. G. Macleod, M. Larbier, and B. Leclercq, 1990. Nitrogen metabolism in genetically fat and lean chickens. *Poult. Sci.* 69:1911-1921.
- Hulan, H. W., F. G. Proudfoot, and D. M. Nash, 1984. The effects of different dietary fat sources on general performance and carcass fatty acid composition of broiler chickens. *Poult. Sci.* 63:324-332.
- Iossa, S., L. Lionetti, M. P. Mollica, R. Crescenzo, A. Barletta, and G. Liverini, 2000. Effect of long-term high-fat feeding on energy balance and liver oxidative activity in rats. *Br. J. Nutr.* 84:377-385.
- Leyton, J., P. J. Drury, and M. A. Crawford, 1987. Differential oxidation of saturated and unsaturated fatty acids *in vivo* in the rat. *Br. J. Nutr.* 57:383-393.
- Madsen, L., A. C. Rustan, H. Vaagenes, K. Berge, E. Dyroy, and R. K. Berge, 1999. Eicosapentaenoic and docosahexaenoic acid affect mitochondrial and peroxisomal fatty acid oxidation in relation to substrate preference. *Lipids* 34:951-963.
- Mater, M. K., D. Pan, W. G. Bergen and D. B. Jump, 1998. Arachidonic acid inhibits lipogenic gene expression in 3T3-L adipocytes through a prostanoid pathway. *J. Lipid Res.* 39:1327-1334.
- Nitsan, Z., A. Dvorin, Z. Zoref, and S. Mokady, 1997. Effect of added soybean oil and dietary energy on metabolisable and net energy of broiler diets. *Br. Poult. Sci.* 38:101-106.
- Ntambi, J. M., 1991. Dietary regulation of stearoyl-CoA desaturase I gene expression in mouse liver. *J. Biol. Chem.* 267:10925-10930.
- Power, G. W., and E. A. Newsholme, 1997. Dietary fatty acids influence the activity and metabolic control of mitochondrial carnitine palmitoyltransferase I in rat heart and skeletal muscle. *J. Nutr.* 127:2142-2150.
- Pullar, J. D., and A. J. F. Webster, 1977. The energy cost of fat and protein deposition in the rat. *Br. J. Nutr.* 37:355-363.
- Rothwell, N. J., M. J. Stock, and B. P. Warwick, 1985. Energy balance and brown fat activity in rats fed cafeteria diets or high-fat, semisynthetic diets at several levels of intake. *Metabolism* 34:474-480.
- Rosebrough, R. W., J. P. McMurtry, and R. Vasilatos-Younken, 1999. Dietary fat and protein interactions in the broiler. *Poult. Sci.* 78:992-998.
- Sanz, M., A. Flores, and C. J. López-Bote, 2000a. The metabolic use of energy from dietary fat in broilers is affected by fatty acid saturation. *Br. Poult. Sci.* 41:61-68.
- Sanz, M., A. Flores, P. Pérez de Ayala, and C. J. López-Bote, 1999. Higher lipid accumulation in broilers fed on saturated fats than in those fed on unsaturated fats. *Br. Poult. Sci.* 40:95-101.
- Sanz, M., C. J. López-Bote, D. Menoyo, and J. M. Bautista, 2000b. Abdominal fat deposition and fatty acid synthesis are lower and β -oxidation is higher in broiler chickens fed diets containing unsaturated rather than saturated fat. *J. Nutr.* 130:3034-3037.

SAS Institute, 1992. SAS[®] User's Guide: Statistics. SAS Institute Inc., Cary, NC.

Shimomura, Y., T. Tamura, and M. Suzuki, 1990. Less body fat accumulation in rats fed a safflower oil diet than in rats fed a beef tallow diet. *J. Nutr.* 120:1291-1296.

Sibbald, I. R., and J. K. G. Kramer, 1980. The effect of the basal diet on the utilization of fat as source of true metabolizable energy, lipid, and fatty acid. *Poult. Sci.* 59:316-324.

Sibbald, I. R., and M. S. Wolynetz, 1985. The energy content of fat and protein in chicks and adult cockerels. *Poult. Sci.* 64:1339-1342.

Takeuchi, H., T. Matsuo, K. Tokuyama, Y. Shimomura, and M. Suzuki, 1995. Diet-induced thermogenesis is lower in rats fed a lard diet than in those fed a high oleic acid safflower oil diet, a safflower oil diet of a linseed oil diet. *J. Nutr.* 125:920-925.

Wilson, M. D., W. L. Blake, L. M. Salati, and S. D. Clarke, 1990. Potency of polyunsaturated and saturated fats as short-term inhibitors of hepatic lipogenesis in rats. *J. Nutr.* 120:544-552.

Wilson, M. D., R. D. Hays, and S. D. Clarke, 1986. Inhibition of liver lipogenesis by dietary polyunsaturated fat in severely diabetic rats. *J. Nutr.* 116:1511-1518.

Wolf, G., 1996. Adipocyte differentiation is regulated by a prostaglandin liganded to the nuclear peroxisome proliferator-activated receptor. *Nutr. Rev.* 54:290-292.

11.8. TABLAS Y FIGURAS TRABAJO EXPERIMENTAL 3

Table 5.1. Fatty acid composition of oils and experimental diets (g/100g fat)¹

Fatty acid ³	Fats and oils				Experimental diets ²				
	Tallow	Olive oil	Sunflower oil	Linseed oil	B	T	OO	SO	LO
C 14:0	3.28	0.00	0.13	0.10	0.20	2.94	0.14	0.13	0.11
C 15:0	0.49	0.00	0.00	0.06	0.11	0.45	0.06	0.05	0.03
C 16:0	27.2	12.7	6.82	5.93	13.9	24.7	13.9	8.05	7.25
C 16:1	2.66	0.98	0.13	0.04	0.20	2.45	0.92	0.13	0.12
C 18:0	21.4	2.82	4.48	3.99	2.71	14.8	2.84	3.46	3.30
trans C 18:1 n-9	4.21	0.00	0.00	0.00	0.00	3.13	0.00	0.00	0.00
C 18:1 n-9	33.5	69.6	25.0	17.9	17.7	30.6	58.4	21.9	16.9
C 18:1 n-7	1.77	2.53	0.60	0.71	0.94	1.64	2.25	0.68	0.78
C 18:2 n-6	4.23	9.64	62.2	14.7	57.9	16.9	19.1	64.1	22.0
C 18:3 n-6	0.02	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
C 20:0	0.22	0.45	0.32	0.19	0.23	0.19	0.35	0.24	0.34
C 18:3 n-3	0.49	0.82	0.09	55.44	5.64	1.73	1.74	1.08	48.78
C 20:1 n-9	0.30	0.30	0.17	0.20	0.38	0.31	0.30	0.19	0.22
SFA	52.6	16.0	11.7	10.3	17.2	43.1	17.3	11.9	11.0
UFA	47.4	84.0	88.3	89.7	82.8	56.9	82.7	88.1	89.0
MUFA	42.5	73.4	25.9	18.9	19.2	38.1	61.8	22.8	18.0
PUFA	4.9	10.6	62.4	70.9	63.6	18.8	20.9	65.2	71.0
n9	38.1	69.9	25.1	18.1	18.1	34.1	58.7	22.0	17.1
n6	4.4	9.8	62.3	14.8	57.9	17.1	19.1	64.1	22.1
n3	0.51	0.82	0.09	56.10	5.64	1.73	1.74	1.08	48.9
n6:n3	8.69	11.9	672	0.26	10.3	9.89	11.0	59.2	0.45
SFA:UFA	1.11	0.19	0.13	0.11	0.21	0.76	0.21	0.14	0.12

¹Values are mean of two determinations

²B: Basal diet without supplemental fat; T: Diet with 10% of added tallow; OO: Diet with 10% of added olive oil; SO: Diet with 10% of added sunflower oil; LO: Diet with 10% of added linseed oil.

³SFA: Saturated fatty acids; UFA: Unsaturated fatty acids; MUFA: Monounsaturated fatty acids; PUFA: Polyunsaturated fatty acids.

Table 5.2. Body composition and abdominal fat¹

Item ²	Final BW	GE ³	Body fat		Carcass fat ⁴		Crude protein		Ash		Moisture		Abdominal fat	
	g	cal/g	%	g	%	g	%	g	%	g	%	g	%	g
B	2,111 ^b	1,969	11.1	234	10.0	210 ^b	20.5 ^a	433 ^a	2.42 ^a	51.1 ^{ab}	66.2	1,396	1.35 ^d	28.3 ^c
T	2,224 ^a	2,142	13.2	293	11.4	253 ^a	18.7 ^b	416 ^b	2.17 ^b	48.4 ^{bc}	65.6	1,460	2.09 ^a	47.0 ^a
OO	2,271 ^a	2,118	12.7	290	11.0	252 ^a	19.1 ^b	432 ^a	2.09 ^b	47.2 ^c	66.0	1,497	1.89 ^{ab}	43.1 ^{ab}
SO	2,301 ^a	2,094	12.9	298	11.3	260 ^a	18.8 ^b	432 ^a	2.26 ^b	52.0 ^a	65.9	1,514	1.77 ^{abc}	41.3 ^{ab}
LO	2,227 ^a	2,126	12.5	277	11.0	245 ^a	18.9 ^b	421 ^{ab}	2.09 ^b	46.5 ^c	66.0	1,469	1.64 ^{bc}	36.2 ^{bc}
Root MSE	123.9	154.5	1.62	37.9	1.34	31.5	0.62	13.7	0.163	3.47	1.53	35.6	0.456	10.34

¹Values are means of 10 determinations²B: Basal diet without supplemental fat; T: Diet with 10% of added tallow; OO: Diet with 10% of added olive oil; SO: Diet with 10% of added sunflower oil; LO: Diet with 10% of added linseed oil.³GE = Gross energy.⁴Carcass fat = Total body fat without abdominal fat.^{a,b,c}Values in the same column with no common superscript differ significantly

Table 5.3. Energy balance per 100g of weight gain (kcal)¹

Item ²	Gross E ³ Intake	Excreted Gross E	AME	AME %	Energy gain ⁴	Total E losses ⁵	E efficiency ⁶ %	E cost of protein gain ⁷	E cost of fat gain ⁸	Heat losses ⁹ %
B	874 ^b	307 ^b	567	65.1	216	351	38.0	161 ^a	31.1 ^a	45.0 ^b
T	972 ^a	386 ^a	586	60.4	243	343	41.4	139 ^b	21.1 ^b	53.3 ^a
OO	863 ^b	301 ^b	563	65.5	238	324	42.2	142 ^b	19.9 ^b	49.8 ^a
SO	884 ^b	313 ^b	571	65.2	234	338	40.8	140 ^b	19.5 ^b	52.6 ^a
LO	903 ^{ab}	322 ^b	582	64.6	242	340	41.7	141 ^b	20.7 ^b	52.0 ^a
Root MSE	70.6	62.3	23.8	4.47	25.6	20.5	3.54	7.0	4.63	3.88

¹Values are means of 10 determinations

²B: Basal diet without supplemental fat; T: Diet with 10% of added tallow; OO: Diet with 10% of added olive oil; SO: Diet with 10% of added sunflower oil; LO: Diet with 10% of added linseed oil.

³E = Energy.

⁴Energy gain = Final body energy - Initial body energy

⁵Total energy losses = AME - Energy gain

⁶Energy gain respect to AME intake

⁷E cost of protein gain = kcal of protein gain x 1.25 kcal

⁸E cost of fat gain = kcal of fat gain x 0.36 kcal for basal diet and 0.16 kcal for diets with added fat.

⁹Heat losses = Total E losses - Energy cost of protein and fat deposition. Percentage calculated respect to total E losses. Include maintenance requirements and heat increment.

^{a,b,c}Values in the same column with no common superscript differ significantly

Table 5.4. Fat balance per 100g of weight gain (g)¹

Item ²	Fat intake	Excreted fat	Digested fat	Digestibility %	Fat gain	Fat losses	Efficiency ³ %
B	7.50 ^d	3.15 ^b	4.35 ^b	58.4 ^b	12.5	-8.16 ^b	293 ^a
T	26.0 ^a	9.35 ^a	16.6 ^a	64.2 ^{ab}	15.9	0.71 ^a	95.6 ^b
OO	22.2 ^c	6.62 ^a	15.6 ^a	70.8 ^a	15.0	0.66 ^a	95.1 ^b
SO	23.0 ^{bc}	7.30 ^a	15.7 ^a	69.3 ^a	15.3	0.32 ^a	97.8 ^b
LO	24.3 ^b	7.60 ^a	16.7 ^a	68.7 ^a	14.9	1.75 ^a	89.6 ^b
Root MSE	1.70	2.589	1.69	9.97	2.68	2.115	29.61

¹ Values are means of 10 determinations² B: Basal diet without supplemental fat; T: Diet with 10% of added tallow; OO: Diet with 10% of added olive oil; SO: Diet with 10% of added sunflower oil; LO: Diet with 10% of added linseed oil.³ Fat gain respect to digested fat^{a,b,c} Values in the same column with no common superscript differ significantly**Table 5.5. Nitrogen balance per 100g weight gain (g)¹**

Item ²	N intake	Excreted N	N gain	N efficiency ³ %
B	7.58 ^a	4.10 ^{ab}	3.50 ^a	46.4 ^a
T	7.56 ^a	4.22 ^a	3.01 ^b	40.1 ^b
OO	6.75 ^b	3.40 ^c	3.08 ^b	46.0 ^a
SO	6.92 ^b	3.52 ^{bc}	3.03 ^b	44.5 ^a
LO	7.07 ^{ab}	3.65 ^{abc}	3.06 ^b	43.6 ^{ab}
Root MSE	0.564	0.617	0.152	4.19

¹ Values are means of 10 determinations² B: Basal diet without supplemental fat; T: Diet with 10% of added tallow; OO: Diet with 10% of added olive oil; SO: Diet with 10% of added sunflower oil; LO: Diet with 10% of added linseed oil.³ N gain respect to N intake^{a,b,c} Values in the same column with no common superscript differ significantly

Table 5.6. Fatty acid balance^{1,2}

	Saturated fatty acids					Root MSE
	B	T	OO	SO	LO	
Initial (g) ³	20.7	20.7	20.8	20.8	21.3	1.72
Final (g) ³	66.6 ^b	81.9 ^a	57.5 ^{bc}	51.0 ^c	48.7 ^c	11.23
Ingested (g)	14.0 ^d	130.0 ^a	47.4 ^b	34.3 ^c	31.2 ^c	6.59
Excreted (g)	6.10 ^c	49.7 ^a	12.9 ^b	14.0 ^b	11.2 ^{bc}	5.740
Absorbed (g)	7.92 ^d	80.3 ^a	34.5 ^b	20.3 ^c	20.0 ^c	5.410
Digestibility (%)	57.3 ^b	61.8 ^b	73.5 ^a	64.6 ^{ab}	63.9 ^{ab}	9.36
Gained (g) ³	45.9 ^b	61.0 ^a	36.5 ^{bc}	30.2 ^c	27.4 ^c	10.71
Gained (%) ⁴	611	74.6 ^b	102 ^b	140 ^a	141 ^a	33.11
Oxidation (g)	-38.0 ^c	19.9 ^a	-1.20 ^b	-8.49 ^b	-7.38 ^b	8.934
	N9 fatty acids					
	B	T	OO	SO	LO	Root MSE
Initial (g)	30.4	30.4	30.5	30.6	31.3	2.52
Final (g)	75.0 ^c	107 ^b	143 ^a	68.8 ^c	63.9 ^c	21.82
Ingested (g)	14.8 ^e	103 ^b	161 ^a	63.3 ^c	48.5 ^d	13.54
Excreted (g)	5.06 ^d	29.7 ^{ab}	38.1 ^a	19.8 ^{bc}	13.9 ^{cd}	13.637
Absorbed (g)	9.70 ^d	73.1 ^b	123 ^a	43.6 ^c	34.6 ^c	12.688
Digestibility (%)	66.0 ^b	70.9 ^{ab}	76.9 ^a	73.3 ^{ab}	71.3 ^{ab}	9.06
Gained (g)	44.6 ^c	75.9 ^b	112 ^a	38.1 ^c	32.6 ^c	20.61
Gained (%) ⁴	456	106	87.0	82.6	94.2	22.74
Oxidation (g)	-34.9 ^c	-3.01 ^b	13.8 ^a	7.26 ^{ab}	1.98 ^{ab}	13.214
	N6 fatty acids					
	B	T	OO	SO	LO	Root MSE
Initial (g)	12.9	13.0	13.0	13.0	13.3	1.07
Final (g)	43.7 ^b	40.9 ^b	46.0 ^b	140 ^a	44.7 ^b	12.78
Ingested (g)	47.3 ^c	51.5 ^{bc}	52.4 ^{bc}	184 ^a	62.5 ^b	12.46
Excreted (g)	14.4 ^b	16.1 ^b	16.4 ^b	41.3 ^a	18.4 ^b	11.39
Absorbed (g)	32.9 ^c	35.4 ^c	36.0 ^c	143 ^a	44.1 ^b	6.30
Digestibility (%)	70.0 ^b	68.7 ^b	69.3 ^b	79.4 ^a	70.7 ^b	7.24
Gained (g)	30.8 ^b	27.8 ^b	32.9 ^b	127 ^a	31.3 ^b	12.35
Gained (%)	93.5 ^a	78.4 ^{ab}	87.2 ^a	88.3 ^a	71.0 ^b	13.77
Oxidation (g)	2.13 ^c	7.68 ^{bc}	3.98 ^c	15.9 ^a	12.8 ^{ab}	7.315
	N3 fatty acids					
	B	T	OO	SO	LO	Root MSE
Initial (g)	1.37	1.37	1.37	1.38	1.41	0.114
Final (g)	3.93 ^b	5.41 ^b	4.58 ^b	3.11 ^a	80.8 ^a	4.954
Ingested (g)	4.60 ^b	5.21 ^b	4.76 ^b	3.11 ^b	138 ^a	5.241
Excreted (g)	1.24 ^b	1.44 ^b	1.39 ^b	1.04 ^b	25.6 ^a	4.704
Absorbed (g)	3.36 ^b	3.77 ^b	3.37 ^b	2.07 ^b	113 ^a	4.132
Digestibility (%)	73.2 ^b	72.3 ^b	71.4 ^b	66.4 ^b	81.8 ^a	7.05
Gained (g) ⁵	2.56 ^b	4.03 ^b	3.19 ^b	1.73 ^b	79.4 ^a	4.907
Gained (%)	75.8 ^{bc}	107 ^a	90.9 ^{ab}	84.8 ^{bc}	70.4 ^c	18.128
Oxidation (g) ⁵	0.81 ^b	-0.25 ^b	0.26 ^b	0.29 ^b	33.4 ^a	3.795

¹ Values are means of 10 determinations

² B: Basal diet without supplemental fat; T: Diet with 10% of added tallow; OO: Diet with 10% of added olive oil; SO: Diet with 10% of added sunflower oil; LO: Diet with 10% of added linseed oil.

³ Initial = Fatty acid content of broilers at the beginning of the experimental period; Final = Fatty acid content of broilers at the end of the experimental period; Gained (g) = Difference between initial and final composition; Gained (%) = Percentage of gained respect to absorbed.

⁴ Values of basal diet are excluded from the statistical analysis

⁵ Values of basal, tallow, olive and sunflower oil diets are not statistically different from 0.

a,b,c,d Values in the same row of the same group of fatty acids with no common superscript differ significantly

Table 5.7. Total body fatty acid (% of incremented fat)^{1,2}

Fatty acid ³	B	T	OO	SO	LO	Root MSE
C 14:0	0.72 ^b	2.48 ^a	0.26 ^c	0.28 ^c	0.31 ^c	0.141
C 15:0	0.11 ^b	0.36 ^a	0.11 ^b	0.04 ^b	0.09 ^b	0.080
C 16:0	25.9 ^a	23.1 ^a	17.0 ^b	10.7 ^c	10.9 ^c	4.53
C 16:1n7	7.41 ^a	5.42 ^b	1.99 ^c	0.67 ^d	1.06 ^{cd}	1.199
C 18:0	6.86 ^{ab}	8.28 ^a	4.77 ^{bc}	4.12 ^c	4.52 ^{bc}	2.328
C 18:1 n9t	0.00 ^b	1.39 ^a	0.00 ^b	0.00 ^b	0.00 ^b	0.154
C 18:1 n9	31.8 ^c	39.4 ^b	55.2 ^a	18.6 ^d	18.2 ^d	5.19
C 18:1 n7	2.27 ^a	2.34 ^a	2.10 ^a	0.49 ^b	0.77 ^b	0.361
C 18:2 n6	20.0 ^b	13.6 ^d	14.9 ^{cd}	61.9 ^a	17.8 ^{bc}	2.94
C 18:3 n6	0.52 ^a	0.16 ^{bc}	0.17 ^{bc}	0.35 ^{ab}	0.05 ^c	0.245
C 20:0	0.09 ^b	0.12 ^b	0.13 ^b	0.00 ^c	0.31 ^a	0.062
C 18:3 n3	1.47 ^b	1.39 ^b	1.22 ^b	0.99 ^b	43.0 ^a	0.933
C 20:1 n9	0.29 ^a	0.05 ^c	0.35 ^a	0.06 ^c	0.18 ^b	0.063
C 20:2 n6	0.21 ^b	0.13 ^c	0.12 ^c	0.47 ^a	0.13 ^c	0.068
C 20:3 n3	0.00 ^b	0.00 ^b	0.00 ^b	0.00 ^b	0.50 ^a	0.017
C 20:4 n6	0.98 ^a	0.73 ^b	0.66 ^b	0.91 ^a	0.10 ^c	0.130
C 20:5 n3	0.07 ^b	0.04 ^b	0.04 ^b	0.00 ^b	1.19 ^a	0.093
C 22:4 n6	0.96 ^a	0.37 ^{ab}	0.60 ^a	0.67 ^a	0.00 ^b	0.560
C 22:5 n3	0.22 ^c	0.47 ^b	0.19 ^c	0.00 ^d	0.78 ^a	0.223
C 22:6 n3	0.11 ^c	0.27 ^b	0.16 ^c	0.18 ^c	0.38 ^a	0.092
SFA	33.7 ^a	34.3 ^a	22.3 ^b	15.1 ^c	16.1 ^{bc}	6.64
UFA	66.3 ^c	65.7 ^c	77.7 ^b	84.9 ^a	83.9 ^{ab}	6.64
MUFA	41.8 ^c	48.6 ^b	59.6 ^a	19.8 ^d	20.2 ^d	6.14
PUFA	24.5 ^b	17.1 ^c	18.1 ^c	65.1 ^a	63.7 ^a	3.13
n9	32.1 ^c	40.8 ^b	55.6 ^a	18.6 ^d	18.4 ^d	5.26
n6	22.7 ^b	15.0 ^c	16.5 ^c	64.3 ^a	17.9 ^c	2.84
n7	9.68 ^a	7.76 ^b	4.04 ^c	1.17 ^d	1.83 ^d	1.446
n3	1.87 ^{bc}	2.17 ^b	1.60 ^{bc}	0.84 ^c	45.8 ^a	1.059
n9:n6	1.45 ^c	2.76 ^b	3.38 ^a	0.29 ^e	1.03 ^d	0.280
n9:n3	17.8 ^c	18.9 ^{bc}	35.3 ^a	22.7 ^b	0.40 ^d	4.122
n6:n3	12.4 ^b	6.90 ^b	10.5 ^b	81.7 ^a	0.40 ^b	3.90
SFA:UFA	0.51 ^a	0.53 ^a	0.32 ^b	0.18 ^b	0.19 ^b	0.156

¹ Values are means of 10 determinations

² B: Basal diet without supplemental fat; T: Diet with 10% of added tallow; OO: Diet with 10% of added olive oil; SO: Diet with 10% of added sunflower oil; LO: Diet with 10% of added linseed oil.

³ SFA: Saturated fatty acids; UFA: Unsaturated fatty acids; MUFA: Monounsaturated fatty acids; PUFA: Polyunsaturated fatty acids.

^{a,b,c,d} Values in the same row with no common superscript differ significantly

Table 5.8. Total body fatty acid (g/100g fat)^{1,2}

Fatty acid ³	B	T	OO	SO	LO	Root MSE
C 14:0	0.77 ^b	2.01 ^a	0.44 ^c	0.44 ^c	0.39 ^c	0.083
C 15:0	0.12 ^b	0.29 ^a	0.11 ^{bc}	0.07 ^c	0.08 ^{bc}	0.047
C 16:0	24.3 ^a	22.6 ^a	18.2 ^b	13.6 ^c	11.9 ^c	3.11
C 16:1n7	7.46 ^a	6.02 ^b	3.66 ^c	2.56 ^d	2.78 ^d	0.748
C 18:0	6.54 ^{ab}	7.62 ^a	5.05 ^{bc}	4.60 ^c	3.66 ^c	1.599
C 18:1 n9t	0.00 ^b	1.00 ^a	0.00 ^b	0.00 ^b	0.00 ^b	0.104
C 18:1 n9	35.1 ^c	39.9 ^b	51.1 ^a	24.9 ^d	22.2 ^d	3.50
C 18:1 n7	2.50 ^a	2.50 ^a	2.31 ^a	1.17 ^b	1.23 ^b	0.231
C 18:2 n6	18.6 ^b	14.3 ^c	15.4 ^c	49.2 ^a	18.6 ^b	1.82
C 18:3 n6	0.43 ^a	0.18 ^{bc}	0.19 ^{bc}	0.32 ^{ab}	0.11 ^c	0.170
C 20:0	0.12 ^b	0.13 ^b	0.14 ^b	0.03 ^c	0.26 ^a	0.041
C 18:3 n3	1.29 ^b	1.26 ^b	1.14 ^b	0.98 ^b	35.28 ^a	0.658
C 20:1 n9	0.36 ^a	0.17 ^c	0.40 ^a	0.18 ^c	0.24 ^b	0.043
C 20:2 n6	0.19 ^b	0.14 ^c	0.14 ^c	0.38 ^a	0.16 ^{bc}	0.048
C 20:3 n3	0.00 ^b	0.00 ^b	0.00 ^b	0.00 ^b	0.38 ^a	0.014
C 20:4 n6	0.87 ^a	0.71 ^a	0.66 ^a	0.84 ^a	0.36 ^b	0.084
C 20:5 n3	0.07 ^b	0.05 ^{bc}	0.05 ^{bc}	0.00 ^c	1.01 ^a	0.063
C 22:4 n6	0.50 ^a	0.36 ^{ab}	0.52 ^a	0.58 ^a	0.07 ^b	0.218
C 22:5 n3	0.38 ^{bc}	0.51 ^b	0.32 ^c	0.03 ^d	0.91 ^a	0.154
C 22:6 n3	0.14 ^c	0.25 ^b	0.17 ^c	0.18 ^c	0.35 ^a	0.063
SFA	31.8 ^a	32.7 ^a	24.0 ^b	18.8 ^c	19.8 ^{bc}	4.58
UFA	68.2 ^c	67.3 ^c	76.1 ^b	81.2 ^a	80.2 ^{ab}	4.58
MUFA	45.4 ^c	49.6 ^b	57.5 ^a	28.8 ^d	29.9 ^d	4.07
PUFA	22.8 ^c	17.8 ^d	18.5 ^d	52.5 ^a	50.3 ^b	2.01
n9	35.5 ^c	41.0 ^b	51.5 ^a	25.0 ^d	25.5 ^d	3.54
n6	20.9 ^b	15.7 ^d	16.9 ^{cd}	51.4 ^a	17.9 ^c	1.72
n7	9.96 ^a	8.52 ^b	5.97 ^c	3.73 ^d	4.43 ^d	0.896
n3	1.87 ^{bc}	2.08 ^b	1.68 ^{bc}	1.13 ^c	32.44 ^a	0.743
n9:n6	1.82 ^c	2.75 ^b	3.20 ^a	0.45 ^e	1.45 ^d	0.244
n9:n3	21.9 ^b	21.9 ^b	30.8 ^a	23.1 ^b	0.80 ^c	4.62
n6:n3	11.5 ^b	7.80 ^b	9.60 ^b	49.6 ^a	0.60 ^c	4.20
SFA:UFA	0.47 ^a	0.49 ^a	0.33 ^b	0.23 ^b	0.25 ^b	0.103

¹ Values are means of 10 determinations

² B: Basal diet without supplemental fat; T: Diet with 10% of added tallow; OO: Diet with 10% of added olive oil; SO: Diet with 10% of added sunflower oil; LO: Diet with 10% of added linseed oil.

³ SFA: Saturated fatty acids; UFA: Unsaturated fatty acids; MUFA: Monounsaturated fatty acids; PUFA: Polyunsaturated fatty acids.

^{a,b,c,d} Values in the same row with no common superscript differ significantly

Figure 5.1. Equations for energy and nutrient balance

AN = IN – EN
GN = FBC – IBC
NL = AN – GN
NE (%) = (GN x 100) / AN
EC protein = GP (Kcal) x 1.25 Kcal
EC fat: Basal diet = GF (Kcal) x 0.36 Kcal
Diets with fat = GF (Kcal) x 0.16 Kcal

AN = Absorbed nutrients; IN = Ingested nutrients; EN = Excreted nutrients;
GN = Gained nutrients; FBC = Final body composition; IBC = Initial body
composition; NL = Nutrient losses; NE = Nutrient efficiency; EC = Energy
cost of deposition; GP = Gained protein; GF = Gained fat.

12. TRABAJO EXPERIMENTAL 4

Dietary Linseed Oil Produces Lower Abdominal Fat Deposition but Higher de novo Fatty Acid Synthesis in Broiler Chickens.

N. Crespo and E. Esteve-Garcia*

Institut de Recerca i Tecnologia Agroalimentàries (I.R.T.A.), Department of Animal Nutrition, Centre de Mas Bové, Apartat 415, 43280 Reus (Tarragona), Spain. Tel. +34 977 34 32 52. Fax. +34 977 34 40

55.

Poultry Sci (2002) 81: 1555-1562

12.1. ABSTRACT

Previous experiments have shown lower abdominal and body fat deposition in broilers fed PUFA, respect to those fed SFA or MUFA. These changes in fat deposition may be related to different rates of lipid synthesis and / or lipid oxidation. In Experiment 1, *in vivo* lipogenesis of broilers fed different dietary fatty acid profiles (tallow, sunflower oil or linseed oil) was investigated. In Experiment 2, liver fatty acid deposition of broilers fed a basal diet (without additional fat) or diets with added tallow, olive, sunflower or linseed oil was studied. Results from Experiment 1 showed higher rates of *de novo* fatty acid synthesis in broilers fed the diet with added linseed oil ($P < 0.05$), respect to those fed tallow or sunflower oil. In Experiment 2, values of liver to dietary fatty acid ratios of fatty acids from endogenous synthesis (SFA, n7 and n9 fatty acids) were higher in broilers fed linseed oil and the basal diet. Results obtained in both experiments suggest that lower abdominal and body fat deposition of broilers fed PUFA respect to those fed SFA or MUFA is mainly due to differences in lipid oxidation rates and that the higher *in vivo* lipogenesis found in broilers fed linseed oil would be another mechanism to dissipate energy, contributing to the lower fat deposition in these birds.

(Key words: Broilers, dietary fatty acid profile, *in vivo* lipogenesis, liver fatty acids).

12.2. INTRODUCTION

Changes in body fat deposition between broilers fed different dietary fatty acid profiles may be related to different rates of lipid synthesis and / or lipid oxidation (Crespo and Esteve-Garcia, 2001a) . Results of *in vitro* experiments in broilers and mammals suggest that PUFA may inhibit hepatic lipogenesis. The only experiment performed on broilers (Sanz et al., 2000) showed that hepatic fatty acid synthetase activity is decreased by diets with added sunflower (rich in PUFA of n6 series) respect to those fed lard. The same results were previously obtained in some experiments in mammals in which PUFA of n6 and n3 series were implicated in the inhibition of several lipogenic enzymes (Wilson et al., 1986 and 1990; Blake and Clarke, 1990; Iritani et al., 1998). Determinations of *in vivo* lipogenesis rates in broiler chickens have been performed by several authors in order to study lipid metabolism in chickens (Griffin et al., 1992) or to compare differences between lean and fat lines (Saadoun and Leclercq, 1987). However, *in vivo* determinations of *de novo* lipogenesis in broilers fed different dietary fats have not been yet studied.

In our previous report (Crespo and Esteve-Garcia, 2002), fatty acid balance during a 20-day period, showed that proportion of endogenous fatty acids deposited was higher in broilers fed linseed oil or sunflower oil than in those fed tallow or olive oil. This suggested higher net endogenous fatty acid synthesis in birds fed diets rich in PUFA. These results led us to perform an experiment whose aim was to study the effect of different dietary fatty acids on *in vivo* hepatic lipogenesis in broilers. Incorporation of tritiated water into hepatic fatty acids was determined in broilers fed tallow, sunflower and linseed oil. This method has been previously used in chickens, by Saadoun and Leclercq (1987) and Griffin et al. (1992). In a second experiment, the hepatic fatty acid profile was also determined in broilers fed different dietary fats.

12.3. MATERIAL AND METHODS

12.3.1. Experiment 1

Animals and Diets. One hundred day-old female broiler chickens of the Ross 308 strain were obtained from a commercial hatchery. They were placed in floor pens and fed a commercial starter diet. From 21 to 27 days, birds were fed a basal diet based on wheat and soybean meal, without additional fat. On day 27, 22 birds per treatment were weighed, placed in individual cages and fed the 3 experimental diets until day 53. On day 41, body weight and feed intake were determined in order to calculate performance parameters before starting determination of *in vivo* lipogenesis. On day 53, all chickens except those used for lipogenesis were killed in a local processing plant. During all the experimental period feed and water were provided for *ad libitum* consumption. Experimental diets consisted in 3 diets based on wheat and soybean meal with 10% of added tallow, sunflower or linseed oils. Composition, nutrient analysis and fatty acid profile of diets are shown in Table 6.1.

Determination of *in vivo* lipogenesis. In their experimental trials Saadoun and Leclercq (1987) and, Griffin et al. (1992) used high doses of tritiated water in order to determine *in vivo* lipogenesis (1.5 mCi / bird and, 2 mCi / kg b.w, respectively). However, in the experiment of Donalson (1985), 0.1 mCi / bird was enough to determine radioactivity in liver fatty acids. Based on these experiments we decided to inject 0.2 mCi / bird that we thought should be enough to obtain detectable values. With tritiated water, chain elongation cannot be differentiated from *de novo* fatty acid synthesis, however most of label incorporation in liver fatty acids is due to *de novo* synthesis (Saadoun and Leclercq, 1987).

On day 45, two birds per treatment were selected by weight. After a fasting period of 6 hours, these birds were allowed feed access during 4 hours. After this period of time feed was removed again. Three hours after feed removal, 2 birds per treatment were injected intravenously with a tritiated water solution (0.2 mCi¹¹ in 0.8 ml saline solution), through a catheter situated in the tibial vein. Blood samples were collected and 10 minutes after injection chickens were rapidly killed by intravenous administration of sodium pentobarbital. Liver and abdominal fat (from gizzard to Bursa of Fabricius) were removed and weighed. Liver was immediately placed in liquid nitrogen and then stored at -20°C until analysis. On days 46, 47, 48 and 49 the same process was carried out, obtaining a total of 11 broilers per treatment. Ten minutes after tritium injection equilibrium within body compartments is achieved and labelled fatty acid exchange among organs is minimised (Saadoun and Leclercq, 1987; Griffin et al., 1992).

Livers were divided in 2 samples and lipids extracted according to the Folch method (Folch et al., 1957). Extracted lipids were saponified in 15 ml of ethanolic 1N KOH. Saponification lasted 45 min at 60°C and 15 h at room temperature. Unsaponifiable materials were extracted 5 times with 10 ml hexane. The soap solution was acidified with 4 ml of 6 N HCl. Fatty acids were collected 5 times with 10 ml hexane, and weighed after evaporation of hexane. Fatty acids were then diluted in 2 ml hexane and placed in the scintillation vial. Fifteen ml of counting solution¹² were added, and counting was carried out in a scintillation counter¹³ for 5 minutes.

12.3.2. Experiment 2

Animals and Diets. One hundred one-day-old female broiler chickens of the Ross 308 strain were obtained from a commercial hatchery. They were placed in floor pens and fed a commercial started diet. From 21 to 27 days birds were fed a basal diet based on wheat and soybean meal, without additional fat. On day 28, after a fasting period of 12 hours, 80 birds were randomly selected, weighed and located in individual cages. From day 28, broilers were fed the experimental diets. They consisted in the same treatments as for Experiment 1, with two additional diets: a basal diet without additional fat and a diet with supplemental olive oil at 10% inclusion level. Fatty acid profile is shown in Table 6.2. Feed and water composition was *ad libitum* during all the experimental period.

¹¹ NET-001B WATER, [3H] (specific activity 1mCi/g); NEN Life Science Products, Inc., Boston, MA.

¹² LS-111-Hydrofluor-1 gal. National Diagnostics USA, 305 Patton Drive, Atlanta, GA.

¹³ Packard Tri-Carb scintillation counter model 1217.

Determinations. On day 53, birds were killed at a local processing plant. Abdominal fat and liver were removed and weighed. Liver fat was extracted by the Folch method (Folch, 1963) and fatty acids determined as previously (Crespo and Esteve-Garcia, 2001a).

12.3.3. Statistical Analysis

Results were subjected to one-way ANOVA by using the GLM procedure of SAS (SAS institute, 1992). When the F test for treatments was significant at $P < 0.05$ in the ANOVA table, means were compared for significant difference using Duncan's multiple range test of the same statistical package. Since lipogenic results were obtained in different days, this factor was included in the model as a blocking factor (two-way ANOVA) and body weight was taken as covariance factor.

12.4. RESULTS

12.4.1. Experiment 1

Percentage of abdominal fat, liver fat and liver fatty acid content are shown in Table 6.3. Abdominal fat was affected by dietary fat as in previous experiments (Crespo and Esteve, 2001a, 2001b). Broilers fed the tallow diet presented higher abdominal fat than those fed sunflower and linseed oil, although differences were only significant respect to birds fed linseed oil. Values of abdominal fat obtained in this experiment are lower than those obtained previously and those from Experiment 2 due to the extraction method (fat surrounding gizzard was not removed). Liver fat was lower in broilers fed diets with linseed oil, respect to those fed tallow or sunflower oil ($P < 0.05$) in agreement with results from Experiment 2. Percentage of fatty acids in liver fat was also lower in these birds. Consequently, total liver fatty acid content was reduced in broilers fed linseed oil. However, there were not significant differences between broilers fed tallow and sunflower oil.

Values of lipogenic activity are shown in Table 6.4. All broilers received very similar amounts of tritiated water as shown by radioactivity levels in plasma. Incorporation of [^3H] per gram of fatty acids was higher in broilers fed linseed oil, as total incorporation in liver and in relation to plasma radioactivity. Thus, results in this experiment suggest that, in post-prandial state, *de novo* lipogenic activity in liver is higher in broilers fed diets with added linseed oil respect to those fed tallow or sunflower oil.

12.4.2. Experiment 2

Performance parameters obtained from 28 to 53 days are shown in Table 6.5. Final weight and weight gain were significantly lower in birds fed the basal diet respect to the rest of treatments with added fat due to the lower fat deposition (Crespo and Esteve-Garcia, 2002). These chickens presented the highest feed to gain ratio which was significantly different respect to birds fed olive, sunflower and linseed oil ($P < 0.05$). Abdominal fat followed the same trends as in previous experiments (Crespo and Esteve-Garcia, 2001a,b) and in Experiment 1. Broilers fed tallow showed higher percentage of abdominal fat than those fed the basal diets or sunflower and linseed oil diets ($P < 0.05$). Quantitatively, differences were only significant respect to birds fed the basal diet or the sunflower diet (Table 6.6).

Liver weight was not different between treatments (Table 6.6) in agreement with results from Experiment 1. However, values in this experiment were higher than those obtained in Experiment 1, possibly due the higher age of birds in this experiment. Fat content of liver followed the same trend as in Experiment 1. Broilers fed linseed oil presented the lowest liver fat content although in this case differences were only significant respect to birds fed tallow. Percentage of liver fat from broilers fed the basal diet was lower than that from broilers fed tallow, although values were similar to those fed olive, sunflower or linseed oil.

Fatty acid profile of liver lipids is presented in Table 6.7. Although the trend is to reflect that of the diet, differences between treatments were not as evident as in other fat depots (Crespo and Esteve-Garcia, 2001a). Birds fed tallow diets showed higher values of c14:0 and c15:0 than the rest of the treatments. C16:0 was found in higher proportions in broilers fed the basal diet and the tallow diet. Palmitoleic acid was also higher in broilers fed the basal diet as was found in total body lipids (Crespo and Esteve-Garcia, 2002). However, stearic acid presented higher percentages in broilers fed sunflower or linseed oils despite the lower content of this fatty acid in these diets, respect to the rest of the treatments. Different results were found in total body lipids where broilers fed these diets showed lower values of this fatty acid than those fed the basal or tallow diets (Crespo and Esteve-Garcia, 2002). Oleic acid was found in higher proportion in broilers fed olive oil, but differences were not statistically different respect to those fed the basal diet or the tallow diet. The lowest value of this fatty acid was in broilers fed sunflower or linseed oils ($P < 0.05$). The highest percentage of linoleic acid and its derivatives was found in broilers fed sunflower oil and the lowest content of these derivatives was found in birds fed linseed oil. The same trends were found with linolenic acid in broilers fed linseed oil. Linolenic acid and derivatives were found in higher proportions in these birds while the lowest content of n3 derivatives were found in those fed sunflower oil, with respect to the rest of the treatments.

Relation of liver fatty acid respect to diet fatty acid is represented in Figure 6.1. Values above 1 indicate an increased liver content of a determined family of fatty acids respect to diet. SFA presented values above 1 in all treatments except in broilers fed tallow diet. Broilers fed linseed oil presented the highest value ($P < 0.05$) increasing more than 4 times respect to diet. Liver to diet ratio of n9 fatty acid was always below 1, except in broilers fed the basal diet. The highest value of n7 fatty acids was also obtained in broilers fed the basal diet, followed by those fed sunflower and linseed oil. Total liver to

diet ratio of fatty acids from endogenous synthesis shows maximal values for broilers fed linseed oil and the basal diet, followed by those fed sunflower oil. However, birds fed tallow or olive oil showed low variability of these liver fatty acids respect to ingested. N6 fatty acids reached values above 1 only in broilers fed tallow diet. Since these fatty acids are not from endogenous synthesis, this increase of n6 fatty acids in liver fat could be consequence of the decrease in SFA and n9 fatty acids respect to diet observed in these birds, or to a preferential deposition of these fatty acids. N3 fatty acids presented values above 1 in all broilers except in those fed the basal or linseed oil diet. As for n6 fatty acids, the increase of liver n3 fatty acids in broilers fed tallow, olive oil or sunflower oil could consequence of the reduction of other fatty acids or to a preferential deposition of these fatty acids.

12.5. DISCUSSION

Results of Experiment 1 and 2 show that diets rich in linseed oil reduces liver lipids and liver fatty acid content, respect to diet rich in tallow, olive or sunflower oils. This effect was previously found in laying hens by Schumann et al. (2000) who fed laying hens with flaxseed, flax oil or n3-fatty acid supplement and found a reduction in liver lipid content, respect to a mixture of animal and vegetable oil. Similar results were found in rats fed fish oil (Lambert et al., 1998). This reduction of liver lipid content by dietary n3 fatty acids could be consequence of the higher oxidation rate of these fatty acids (Madsen et al., 1999; Fu and Sinclair, 2000). Lambert et al. (1998), in their study with rats, suggested a reduction on lipid lipogenesis produced by these fatty acids. However, higher deposition of fatty acids from endogenous synthesis found in a previous experiment (Crespo and Esteve-Garcia, 2002) and higher [³H] incorporation into liver fatty acids obtained in Experiment 1 suggests that *de novo* lipogenesis is increased in broilers fed linseed oil respect to those fed tallow or sunflower oil which is in disagreement with some previous experiments carried in mammals (Wilson et al., 1986 and 1990; Blake and Clarke, 1990; Iritani et al., 1998) and in broilers (Sanz et al., 2000). However, other authors found higher lipogenesis in adipose tissues of pigs fed diets with added maize oil respect to those fed diets containing beef tallow (Kouba and Mouro, 1998), and higher lipogenesis in liver and retroperitoneal fat of rats fed polyunsaturated n6 fatty acids respect to those fed SFA (Gaíva et al., 1996). These results suggest that lipogenesis control may differ between liver and adipose tissue. The fact that the main site of lipogenesis in broilers is liver (Griffin et al., 1992) suggests that different mechanism may be implicated in the control of hepatic lipogenesis in this species. Saadoun and Leclercq (1987) have related hepatic lipid content with hepatic lipogenesis. However, in our experiment, birds fed the low fat diet showed the lowest liver lipid content although endogenous synthesis in these broilers is clearly enhanced as was shown by fatty acid balance in a previous experiment (Crespo and Esteve-Garcia, 2002). Liver lipid content of broilers fed linseed oil is very similar to that of broilers fed the basal diet. These results suggest that enhanced lipogenesis could not be always related to higher liver lipid deposition. Moreover, it could be suspected that higher liver lipid content in broilers fed tallow respect to those fed linseed oil or the basal diet could be consequence of

a direct deposition of dietary lipids instead of a higher hepatic lipogenesis. Since n3 fatty acids are preferentially oxidised (Fu and Sinclair, 2000) they would not be disposable for inhibition of lipogenesis enzymes. Moreover, *de novo* fatty acid synthesis in broilers fed diets with added fat represents a small portion of total fat deposition (from 1.2 to 8.5%), as was found by Crespo and Esteve-Garcia (2002). Thus, higher lipogenesis in broilers fed linseed oil would not be contradictory with lower fat deposition. Although liver fatty acids reflected dietary fatty acid profile, differences between treatments in this tissue were smaller. Lower modification of liver fatty acids by dietary lipids was also observed by Scaife et al. (1994). This lower effect could be consequence of the endogenous fatty acid synthesis in hepatic tissue. The highest content of stearic acid and the lowest of oleic acid were found in livers of broilers fed sunflower or linseed oil. This reflects inhibitory activity of Δ -9 desaturase by PUFA (Lochsen et al., 1997; Kouba and Mouro, 1998). The lowest content on n6 derivatives in broilers fed linseed oil and the lowest content on n3 derivatives in those fed sunflower oil reflects competition of these fatty acid families by desaturases Δ -5 and Δ -6. The same effect was found by other authors and in other fat depots (Scaife et al., 1994; Crespo and Esteve-Garcia, 2001a). Values of liver to dietary fatty acid ratios higher than 1 of SFA, n9 and n7 fatty acids in broilers fed the basal diet is clearly consequence of the high endogenous fatty acid synthesis in these birds. Between broilers fed diets with added fat, different deposition ratios could be consequence of different preferences of fatty acid deposition, different oxidation rates or different lipogenesis. Values of [³H] incorporation into liver fatty acids obtained in Experiment 1 suggest that the higher ratio of SFA in broilers fed linseed oil respect to the rest of the treatments and higher of n7 respect to broilers fed tallow or olive oil could be consequence of higher lipogenic activity in these birds. Although similar values of fatty acid ratios were found in broilers fed sunflower oil, lipogenesis in these birds was lower than in broilers fed linseed oil and did not differ from that of birds fed tallow diet. These results suggest that lower abdominal fat deposition in broilers fed linseed oil is due to very high rates of lipid oxidation despite the higher lipogenesis activity. In broilers fed sunflower oil, although lipid oxidation is not as high as in birds fed linseed oil, it is higher than in broilers fed tallow or olive oil, and although lipogenesis is similar to that of birds fed tallow, final result would be also lower abdominal fat deposition.

Results in these experiments suggest that differences in fat deposition between broilers fed different dietary fatty acid profiles are more related to different rates of lipid oxidation than to lipid synthesis. This suggestion was also supported by Calabotta et al. (1985) comparing chickens from high and low body weight lines. Thus, higher *de novo* lipogenesis in broilers fed linseed oil would be another mechanism to dissipate energy. Synthesis of fat from carbohydrates may suppose dissipation of 28% of the total energy provided by carbohydrates if they were directly oxidised. In this concern, metabolic role of *de novo* lipogenesis on high fat diets would be a mechanism to dissipate energy as was suggested by Hellerstein (1996) in a review article.

12.6. CONCLUSIONS

Results in these experiments suggest that lower abdominal fat deposition in broilers fed sunflower and linseed oil respect to those fed tallow and olive oil, would be manly consequence of higher rates of lipid oxidation instead of lower lipogenesis as has been suggested by other authors. Higher de novo fatty acid synthesis found in broilers fed linseed oil would be a mechanism to dissipate energy, contributing to the reduction of fat deposition found in these birds.

12.7. ACKNOWLEDGEMENTS

This project has been supported by INIA (Instituto Nacional de Investigación Agraria, of Spanish Government) (project number SC 97-045 and fellowship 1997-2000), and CIRIT (of Catalonian Government) (Quality Research Group with reference number GRQ93-9804).

12.8. REFERENCES

- Blake, W. L., S. D. Clarke, 1990. Suppression of rat hepatic fatty acid synthase and S14 gene transcription by dietary polyunsaturated fat. *J. Nutr.* 120:1727-1729.
- Calabotta, D. F., J. A. Cherry, P. B. Siegel, and D. E. Jones, 1985. Lipogenesis and lipolysis in fed and fasted chickens from high and lox body weight lines. *Poultry Sci.* 64:700-704.
- Crespo, N., and E. Esteve-Garcia, 2001a. Dietary fatty acid profile modifies abdominal fat deposition in Broiler Chickens. *Poultry Sci.* 80:71-78.
- Crespo, N., and E. Esteve-Garcia, 2001b. Dietary polyunsaturated fatty acids decrease fat deposition in separable fat depots but not in the remainder carcass. *Poultry Sci.* Submitted.
- Crespo, N., and E. Esteve-Garcia, 2002. Nutrient and Fatty Acid Deposition in Broilers Fed Different Dietary Fatty Acid Profiles. *Poultry Sci.* Submitted.
- Donalson, W.E., 1985. Lipogenesis and body fat in chicks: effects of calorie-protein ratio and dietary fat. *Poultry Sci.* 64:1199-1204.
- Folch, J., M. Lees, and G. H. Sloan-Stanley, 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem.* 226:497-507.
- Fu, Z., and A. J. Sinclair, 2000. Increased α -linolenic acid intake increases tissue α -linolenic acid content and apparent oxidation with little effect on tissue docosahexaenoic acid in the guinea pig. *Lipids*, 35:395-400.
- Gaíva, M. H., T. C. Pithon, and C. M. Oller, 1996. Effect of saturated and polyunsaturated fatty acids rich diets on hepatic and adipose tissue lipid metabolism in rats. *Internat. J. Vit. Nutr. Res.* 66:258-262.
- Griffin, H. D., K. Guo, D. Windsor, and S. C. Butterwith, 1992. Adipose tissue lipogenesis and fat deposition in leaner broiler chickens. *J. Nutr.* 122:363-368.
- Hellerstein, M. K., 1996. Synthesis of fat in response to alterations in diet: insight from new stable isotope methodologies. *Lipids*. 31:S-117-S-125.
- Iritani, N., M. Komiya, H. Fukuda, and T. Sugimoto, 1998. Lipogenic enzyme gene expression is quickly suppressed in rats by a small amount of exogenous polyunsaturated fatty acids. *J. Nutr.* 128:967-972.
- Kouba, M., and J. Mouro, 1998. Effect of a high linoleic acid diet on D9-desaturase activity, lipogenesis and lipid composition of pig subcutaneous adipose tissue. *Reprod. Nutr. Dev.* 38:31-37.
- Lambert, M. S., M. A. Avella, K. M. Botham, and P. A. Mayes, 1998. Comparison of short- and long-term effects of different dietary fats on the hepatic uptake and metabolism of chylomicron remnants in rats. *Br. J. Nutr.* 79:203-211.
- Lochsen, T., H. Ormstad, H. Braud, B. Brodal, E. N. Christiansen, and H. Osmundsen, 1997. Effects of fish oil and n-3 fatty acids on the regulation of D9-fatty acid desaturase mRNA and -activity in rat liver. *J. Nutr. Biochem.* 8:408-413.

- Madsen, L., A. C. Rustan, H. Vaagenes, K. Berge, E. Dyroy, and R. K. Berge, 1999. Eicosapentaenoic and docosahexaenoic acid affect mitochondrial and peroxisomal fatty acid oxidation in relation to substrate preference. *Lipids* 34:951-963.
- Saadoun, A., and B. Leclercq, 1987. *In vivo* lipogenesis of genetically lean and fat chickens: effects of nutritional state and dietary fat. *J. Nutr.* 117:428-435.
- Sanz, M., C. J. Lopez-Bote, D. Menoyo, and J. M. Bautista, 2000. Abdominal fat deposition and fatty acid synthesis are lower and b-oxidation is higher in broiler chickens fed diets containing unsaturated rather than saturated fat. *J. Nutr.* 130:3034-3037.
- SAS Institute, 1992. SAS[®] User's guide: Statistics. SAS Institute Inc., Cary, NC.
- Scaife, J. R., J. Moyo, H. Galbraith, W. Michie, and V. Campbell, 1994. Effect of different dietary supplemental fats and oils on the tissue fatty acid composition and growth of female broilers. *Br. Poult. Sci.* 35:107-118.
- Shumann, B. E., E. J. Squires, and S. Leeson, 2000. Effect of dietary flaxseed, flax oil and n-3 fatty acid supplement on hepatic and plasma characteristics relevant to fatty liver haemorrhagic syndrome in laying hens. *Br. Poult. Sci.* 41:465-472.
- Wilson, M. D., R. D. Hays, and S. D. Clarke, 1986. Inhibition of liver lipogenesis by dietary polyunsaturated fat in severely diabetic rats. *J. Nutr.* 116:1511-1518.
- Wilson, M. D., W. L. Blake, L. M. Salati, and S. D. Clarke, 1990. Potency of polyunsaturated and saturated fats as short-term inhibitors of hepatic lipogenesis in rats. *J. Nutr.* 120:544-552.

12.9. TABLAS Y FIGURAS TRABAJO EXPERIMENTAL 4

Table 6.1: Ingredients, nutrient composition and fatty acid profile of experimental diets¹.

Ingredients	T	SO	LO
Wheat	58.2	58.3	58.3
Soybean meal (48% CP)	26.9	27	27
Ext. Soybean Int.	0.2	0.1	0.1
Tallow	10		
Olive oil			
Sunflower oil		10	
Linseed oil			10
DL-Methionine	0.29	0.29	0.29
L-Lysine	0.25	0.26	0.26
L-Threonine	0.06	0.06	0.06
Calcium carbonate	1.79	1.77	1.77
Dicalcium Phosphate	1.62	1.62	1.62
Salt	0.31	0.31	0.31
Vitamin and mineral premix ²	0.4	0.4	0.4
Calculated Metabolizable Energy (Kcal/kg)	3,300	3,300	3,300
Analyzed nutrient content			
Crude protein (%)	20.5	21.0	20.6
Lipid content (%)	10.9	10.8	10.6
Crude fiber (%)	2.8	2.4	2.5
Dry matter (%)	90.1	90.5	90.8
Fatty acid profile (%) ³			
SFA	44.2	11.9	10.5
UFA	55.8	88.1	89.5
MUFA	39.8	26.1	17.5
PUFA	16.0	61.9	71.9
Total n9	35.3	25.1	16.6
Total n6	14.2	60.9	23.4
Total n3	1.8	1.0	48.6

¹ B = Basal diet; T = Tallow diet; SO = Sunflower oil diet; LO = Linseed oil diet.

² Composition of vitamin and mineral premix: 1 Kg of feed contains: vitamin A, 12000 UI; vitamin D₃, 5000 UI; vitamin E, 30 mg; vitamin K₃, 3 mg; vitamin B₁, 2.2 mg; vitamin B₂, 8 mg; vitamin B₆, 5 mg; vitamin B₁₂, 11 Mg; folic acid, 1.5 mg; biotin 150 Mg, calcium pantothenate, 25 mg; nicotinic acid, 65 mg; Mn, 60 mg; Zn, 40 mg; I, 0.33 mg; Fe, 80 mg; Cu, 8 mg; Se, 0.15 mg; and ethoxyquin, 150 mg.

³ SFA = Saturated fatty acids; UFA = Unsaturated fatty acids; MUFA = Monounsaturated fatty acids; PUFA = Polyunsaturated fatty acids.

Table 6.2: Fatty acid composition of diets (Experiment 2) (g/100g fat)¹:

Fatty acid ³	Experimental diets ²				
	B	T	OO	SO	LO
C 14:0	0.20	3.23	0.11	0.11	0.10
C 15:0	0.11	0.47	0.05	0.05	0.06
C 16:0	14.95	27.40	13.67	8.01	6.60
C 16:1 n7	0.20	2.52	0.89	0.11	0.10
C 18:0	2.46	16.89	2.78	3.69	2.14
C 18:1 n9 <i>t</i>	0.00	5.13	0.00	0.00	0.00
C 18:1 n9	18.38	32.28	59.88	22.91	17.90
C 18:1 n7	1.02	1.78	2.29	0.67	0.81
C 18:2 n6	57.30	7.79	18.08	63.12	22.94
C 18:3 n6	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
C 20:0	0.25	0.16	0.38	0.27	0.15
C 18:3 n3	4.56	1.82	1.55	0.88	48.73
C 20:1 n9	0.47	0.33	0.31	0.20	0.26
C 20:2 n6	0.10	0.11	0.00	0.00	0.07
C 20:3 n3	0.00	0.03	0.00	0.00	0.07
C 20:4 n6	0.00	0.05	0.00	0.00	0.08
SFA	17.97	48.15	16.99	12.12	9.05
UFA	82.03	51.85	83.01	87.88	90.95
MUFA	20.07	42.04	63.37	23.88	19.06
PUFA	61.96	9.80	19.64	63.99	71.88
N9	18.85	37.74	60.19	23.11	18.15
N7	1.22	4.30	3.18	0.78	0.91
N6	57.40	7.95	18.08	63.12	23.08
N3	4.56	1.85	1.55	0.88	48.80
n6:n3	12.61	4.69	11.64	71.97	0.47
SFA:UFA	0.22	0.94	0.20	0.14	0.10

¹Values are mean of two determinations

²B: Basal diet without supplemental fat; T: Diet with 10% of added tallow; OO: Diet with 10% of added olive oil; SO: Diet with 10% of added sunflower oil; LO: Diet with 10% of added linseed oil.

³SFA: Saturated fatty acids; UFA: Unsaturated fatty acids; MUFA: Monounsaturated fatty acids; PUFA: Polyunsaturated fatty acids.

Table 6.3: Abdominal fat, liver fat and liver fatty acid content of broilers used for the lipogenesis test¹:

Treatment ²	Body weight	Feed intake during 4 hours	Abdominal fat		Liver weight	Liver fat		Fatty acids in liver fat	Fatty acid in liver	
	g	g	g	%	g	g	%	%	g	%
T	2515	56.4	45.8 ^a	1.83 ^a	51.9	3.62 ^a	6.97 ^a	75.8 ^a	2.78 ^a	5.34 ^a
SO	2478	56.8	40.5 ^{ab}	1.62 ^{ab}	52.8	3.20 ^a	6.27 ^a	73.8 ^a	2.40 ^a	4.68 ^a
LO	2473	57.7	35.1 ^b	1.41 ^b	50.9	2.32 ^b	4.54 ^b	67.9 ^b	1.57 ^b	3.07 ^b
Root MSE	56.7	9.55	7.27	0.288	4.49	0.912	1.654	4.34	0.800	1.455

¹Values are means of 11 determinations obtained during 5 days of lipogenesis determination. Means within a column lacking a common superscript differ statistically ($P < 0.05$)

²T = Tallow diet; SO = Sunflower oil diet; LO = Linseed oil diet.

Table 6.4: Effects of different dietary fat on in vivo lipogenesis¹:

Treatment ²	DPM/g AG	DPM/0.1ml plasma	DPM/liver	DPM liver/DPM plasma
T	1261 ^b	18503	3701 ^{ab}	0.20 ^{ab}
SO	1747 ^b	18892	3088 ^b	0.16 ^b
LO	4125 ^a	18564	5463 ^a	0.30 ^a
Root MSE	1884.5	737.2	2353.1	0.130

¹Values are means of 11 determinations obtained during 5 days of lipogenesis determination. Means within a column lacking a common superscript differ statistically ($P < 0.05$)

²T = Tallow diet; SO = Sunflower oil diet; LO = Linseed oil diet.

Table 6.5: Performance parameters of birds from Experiment 2 (28-53 days)¹:

Treatment ²	Initial weight g	Final weight g	Feed intake g	Weight gain g	F:G
B	898	2472 ^b	4011	1575 ^b	2.57 ^a
T	911	2653 ^a	4154	1742 ^a	2.39 ^{ab}
OO	918	2656 ^a	4023	1738 ^a	2.32 ^b
SO	904	2664 ^a	3873	1760 ^a	2.20 ^b
LO	909	2633 ^a	3986	1724 ^a	2.32 ^b
Root MSE	42.7	161.4	387.9	141.8	0.263

¹Values are means of 16 determinations. Means within a column lacking a common superscript differ statistically ($P < 0.05$)

² B = Basal diet; T = Tallow diet; OO = Olive oil diet; SO = Sunflower oil diet; LO = Linseed oil diet.

Table 6.6: Liver weight, liver fat content and abdominal fat of broilers from Experiment 2¹:

Treatment ²	Liver weight g	Liver fat		Abdominal fat	
		g	%	g	%
B	63.2	4.09 ^{ab}	6.26 ^b	43.6 ^c	1.76 ^d
T	63.7	4.74 ^a	7.29 ^a	77.8 ^a	2.93 ^a
OO	64.5	4.32 ^{ab}	6.52 ^{ab}	73.1 ^a	2.74 ^{ab}
SO	63.2	4.21 ^{ab}	6.49 ^{ab}	58.5 ^b	2.20 ^{cd}
LO	66.7	3.70 ^b	5.74 ^b	64.8 ^{ab}	2.44 ^{bc}
Root MSE	8.02	1.376	1.538	18.28	0.636

¹Values are means of 16 determinations. Means within a column lacking a common superscript differ statistically ($P < 0.05$)

² B = Basal diet; T = Tallow diet; OO = Olive oil diet; SO = Sunflower oil diet; LO = Linseed oil diet.

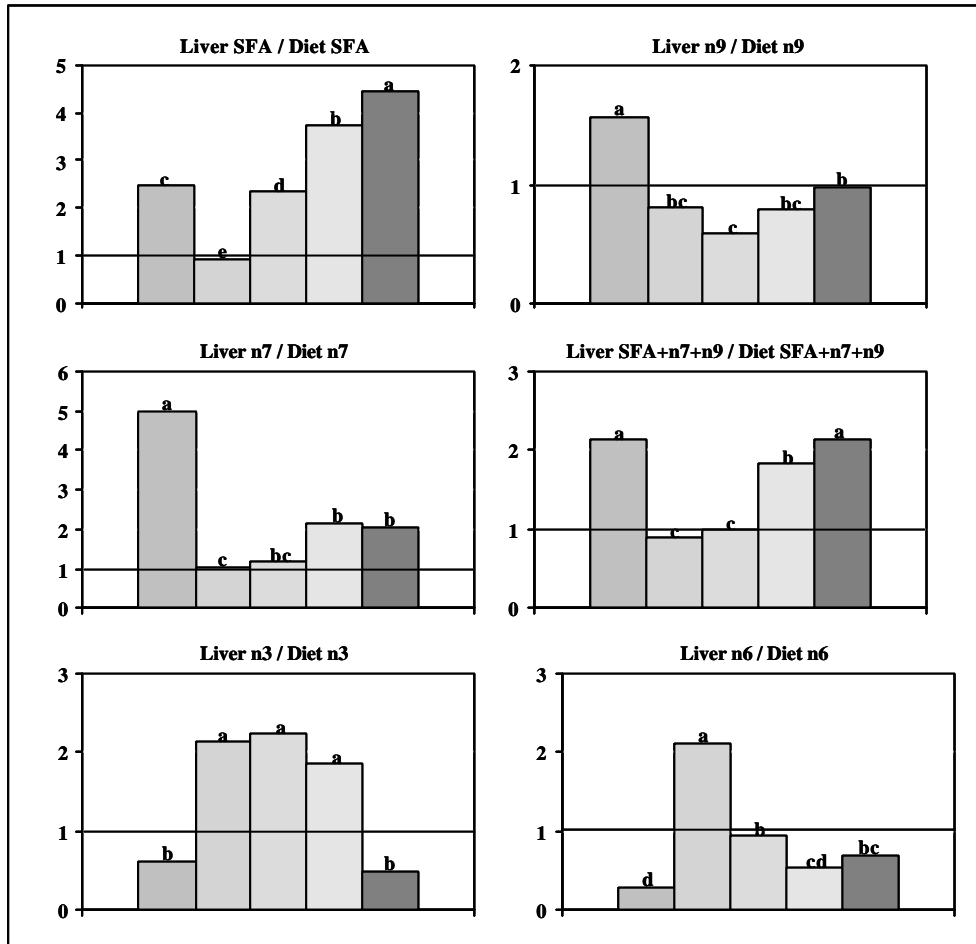
Table 6.7: Fatty acid composition of livers from Experiment 2 (g/100g fat)¹:

Fatty acid ²	B	T	OO	SO	LO	Root MSE
C 14:0	0.49 ^b	0.70 ^a	0.42 ^{bc}	0.44 ^{bc}	0.35 ^c	0.100
C 15:0	0.03 ^c	0.12 ^a	0.03 ^{bc}	0.06 ^b	0.05 ^{bc}	0.037
C 16:0	25.8 ^a	24.0 ^{ab}	21.0 ^c	21.3 ^{bc}	17.5 ^d	2.97
C 16:1 n7	3.89 ^a	2.46 ^b	1.67 ^{bc}	0.81 ^c	0.93 ^c	1.071
C 18:0	18.6 ^c	20.0 ^{bc}	18.4 ^c	23.1 ^a	22.3 ^{ab}	3.26
C 18:1 n9 <i>t</i>	0.00 ^b	0.53 ^a	0.00 ^b	0.00 ^b	0.00 ^b	0.045
C 18:1 n9	29.2 ^a	29.1 ^a	35.1 ^a	18.0 ^b	17.6 ^b	6.60
C 18:1 n7	2.21 ^a	1.91 ^b	2.09 ^{ab}	0.85 ^c	0.95 ^c	0.293
C 18:2 n6	12.1 ^b	12.8 ^b	12.1 ^b	25.4 ^a	14.0 ^b	3.14
C 18:3 n6	0.16 ^a	0.09 ^b	0.11 ^b	0.17 ^a	0.08 ^b	0.049
C 20:0	0.14	0.13	0.13	0.16	0.14	0.034
C 18:3 n3	0.25 ^b	0.33 ^b	0.25 ^b	0.18 ^b	8.83 ^a	0.924
C 20:1 n9	0.40 ^b	0.45 ^b	0.57 ^a	0.31 ^c	0.25 ^d	0.056
C 20:2 n6	0.37 ^b	0.42 ^b	0.35 ^b	1.17 ^a	0.41 ^b	0.197
C 20:3 n3	0.00 ^b	0.00 ^b	0.00 ^b	0.00 ^b	0.85 ^a	0.139
C 20:4 n6	3.21 ^b	2.88 ^b	3.82 ^{ab}	4.96 ^a	1.31 ^c	1.639
C 20:5 n3	0.31 ^b	0.46 ^b	0.30 ^b	0.00 ^b	6.51 ^a	1.033
C 22:4 n6	0.74 ^b	0.61 ^{bc}	0.72 ^b	1.77 ^a	0.19 ^c	0.473
C 22:5 n3	1.07 ^b	1.58 ^b	1.12 ^b	0.93 ^b	3.95 ^a	1.016
C 22:6 n3	1.15 ^{bc}	1.56 ^{bc}	1.78 ^b	0.52 ^c	3.86 ^a	1.187
SFA	45.0 ^a	45.0 ^a	40.0 ^b	45.1 ^a	40.3 ^b	1.90
UFA	55.0 ^b	55.1 ^b	60.0 ^a	54.9 ^b	59.7 ^a	1.90
MUFA	35.7 ^a	34.5 ^a	39.5 ^a	20.0 ^b	19.7 ^b	7.54
PUFA	19.3 ^b	20.7 ^b	20.5 ^b	34.9 ^a	40.0 ^a	7.27
n9	29.6 ^a	30.1 ^a	35.7 ^a	18.3 ^b	17.8 ^b	6.60
n6	16.6 ^b	16.8 ^b	17.1 ^b	33.3 ^a	16.0 ^b	5.14
n3	2.78 ^b	3.92 ^b	3.45 ^b	1.63 ^b	24.00 ^a	2.769
n6:n3	6.22 ^b	4.64 ^b	5.63 ^b	21.18 ^a	0.67 ^c	1.827
SFA:UFA	0.82 ^a	0.82 ^a	0.67 ^b	0.83 ^a	0.68 ^b	0.060

¹Values are means of 10 determinations. Means within a row lacking a common superscript differ statistically (P < 0.05)

²B = Basal diet; T = Tallow diet; OO = Olive oil diet; SO = Sunflower oil diet; LO = Linseed oil diet.

Figure 6.1: Liver to dietary fatty acid ratio (Experiment 2).



Values are means of 10 determinations of liver fatty acids divided by dietary fatty acid percentage. Bars correspond to broilers fed Basal diet (), Tallow diet (), Olive oil diet (), Sunflower oil diet (), or Linseed oil diet ().



13. TRABAJO EXPERIMENTAL 5

Polyunsaturated Fatty Acids Reduce Insulin and VLDL Secretion in Broiler Chickens.

N. Crespo and E. Esteve-Garcia

Institut de Recerca i Tecnologia Agroalimentàries (I.R.T.A.), Department of Animal Nutrition, Centre de Mas Bové, Apartat 415, 43280 Reus (Tarragona), Spain. Tel. +34 977 32 84 24. Fax. +34 977 34 40

55.

13.1. ABSTRACT.

An experiment was conducted to study the effect of different dietary fatty acid profiles on plasma levels of insulin, VLDL and other serum lipids. Diets with four types of fat (tallow, olive, sunflower, and linseed oils) at an inclusion level of 10%, and a basal diet without additional fat, were administered to female broiler chickens. Only insulin and VLDL were affected by the different treatments. In the fasted state, broilers fed diets with sunflower or linseed oil presented lower levels of insulin respect to those fed tallow ($P = 0.07$). VLDL in the fasted state was reduced in broilers fed sunflower and linseed oils ($P < 0.05$) respect to those fed tallow, olive oil or the basal diet. Plasma levels of VLDL were only significantly correlated with abdominal fat in birds fed the basal diet, in the fed and in the fasted state, and in those fed linseed oil in the fed state ($P < 0.05$).

Results on this experiment suggest that higher insulin levels in broilers fed diets rich in SFA could be related with higher fat deposition. Fat deposition in birds fed high fat diets is not correlated with VLDL secretion suggesting direct dietary fat deposition, except for birds fed linseed oil diets. Although birds fed linseed oil diets presented lower levels of VLDL than those fed tallow, olive oil or the basal diet, the higher correlation with abdominal fat suggests that in these birds, fat deposition continues depending on hepatic VLDL secretion, despite the high dietary fat level.

(Key words: Broiler, abdominal fat, dietary fatty acid profile, insulin, VLDL).

13.2. INTRODUCTION

Diets rich in PUFA have been found to reduce fat deposition in broiler chickens when compared to diets supplemented with the same amount of fats rich in SFA or MUFA (Sanz et al., 1999; Crespo and Esteve-Garcia, 2001 and 2002a). Differences in lipid oxidation rates seem to be the main mechanism involved in this effect (Crespo, 2002b; Sanz et al., 2000). Preferential oxidation of PUFA respect to SFA or MUFA could reduce fatty acids available for deposition in broilers fed diets rich in PUFA. However, other physiological mechanisms which regulate lipid metabolism could be also involved.

Dietary fatty acid profile seems to affect insulin secretion and insulin resistance which causes obesity in mammals (Grill and Qvigstad, 2000; Storlien et al, 2000). In broilers, insulin seems to be involved in the differences between fat and lean lines. Higher fat deposition in broilers selected for high body weight or high abdominal fat content is associated with increased plasma concentrations of insulin and glucagon (Sinsigalli, 1987; Dupont et al., 1999) and is perhaps related to some kind of glucose-insulin imbalance (Touchburn et al., 1981). Also, fat lines present higher levels of VLDL respect to lean lines (Griffin et al., 1982; Whitehead and Griffin, 1982; Hermier, 1997) suggesting differences in lipoprotein metabolism between lines.

Differences in fat deposition due to different dietary fatty acid profiles could be also related to the same metabolic differences between lean and fat chicken lines. Thus, in this experiment, the effect of different dietary fatty acid profiles on serum VLDL, insulin, cholesterol and glucose was studied to determine if changes in fat deposition between broilers fed diets rich in SFA or MUFA respect to those fed diets rich in PUFA are accompanied by changes in these metabolic parameters.

13.3. MATERIAL AND METHODS

13.3.1. Animals and Facilities

The animal facilities, working protocol and killing methods were approved by IRTA's Ethical Committee. One hundred one-day-old female broiler chickens of the Ross 308 strain were obtained from a commercial hatchery. They were placed in floor pens and fed a commercial starter diet. From 21 to 28 d, birds were fed a basal diet based on wheat and soybean meal, without additional fat. On d 28 of the experiment, 70 birds were weighed and placed in individual cages and fed the experimental diets until day 50. Fourteen animals were fed each experimental diet. On day 50, all birds were weighed and killed in a local processing plant. Abdominal fat pad (including fat surrounding gizzard, Bursa of Fabricius, cloaca and adjacent muscles) was removed and weighed individually.

13.3.2. Experimental Diets

Experimental diets were formulated as previously published (Crespo and Esteve-Garcia, 2001). Four diets were based on wheat and soybean meal with 10% added tallow, olive, sunflower, or linseed oil.

An additional diet without supplemental fat and, consequently, with lower energy content was used as control diet. Composition, nutrient and fatty acid analyses of diets are shown in Table 7.1. Dry matter, crude protein, and crude fiber were determined as outlined by AOAC (1990). Lipid content was determined by the Folch method (Folch et al., 1957). Fatty acid profile was determined as previously described (Crespo and Esteve-Garcia, 2001).

13.3.3. Biochemical Determinations

Blood samples were collected by intracardiac puncture. All determinations were performed in serum samples to avoid anticlotting agent interference with analytical procedures, except VLDL that was determined in plasma to obtain higher amount of sample. Serum was obtained by centrifugation at 1000 g during 10 minutes, and stored at – 20°C until analysis. Plasma was obtained using EDTA as anti-clotting agent and then spinning at 1000 g during 10 minutes. Because metabolic parameters in this study are highly influenced by feeding state, biochemical determinations were performed in fed and fasted states.

Cholesterol and glucose were determined with a clinical chemistry autoanalyzer¹⁴ and enzymatic reagents¹⁵, in the Clinical Biochemistry Service of the Veterinary Faculty of Universitat Autònoma of Barcelona.

Insulin, glucose and VLDL were measured in fasted and fed state whereas cholesterol was determined only in the fasted state. For the fasted state, blood samples were collected after a 12-hour fasting period. For the fed state, blood samples were collected 3 hours after the beginning of feed ingestion. Insulin determinations were performed in the Clinical Biochemistry Service of the Veterinary Faculty of Universitat Autònoma of Barcelona. It was determined by RIA, using the method described by Geraert et al. (1996). A calibration curve was performed using seriated dilutions of chicken insulin between 0 and 5 ng/ml and represented in a semilogarithmic scale. For measuring counts per minute, a rat insulin RIA kit was used¹⁶. VLDL was determined using the method described by Griffin and Whitehead (1982). A calibration curve was made with solutions containing different concentration of human VLDL¹⁷. An aliquot of 0.2 ml of plasma were mixed with 4 ml of a buffer solution containing 0.25 g of heparin / L. After a 30 minutes standing at environmental temperature, absorbance was measured at 520 nm.

13.3.4. Statistical Analysis

All values were subjected to one-way ANOVA using the GLM procedure of SAS software (SAS Institute, 1992). Insulin values had different variances between treatments, and logarithmic

¹⁴ Cobas Bio autoanalyzer, F. Hoffman-La Roche Ltd., Basel, Switzerland.

¹⁵ Boehringer Mannheim, Indianapolis, IN.

¹⁶ Rat insulin RIA kit, 250 tubes (Cat.#RI-13K), Linco Research Inc., St. Charles, MO.

¹⁷ Sigma, St. Louis, MO

transformation was used for statistical analysis. For all determined parameters linear contrasts were performed. Based on results of previous experiments (Crespo and Esteve-Garcia, 2001, 2002a) the following hypotheses were tested: treatments resulting in high abdominal fat were compared with those resulting in low abdominal fat (tallow and olive oil versus sunflower and linseed oil diets). Basal treatment was also contrasted with each of these groups and with the whole group of birds fed diets with added fat. The levels of VLDL in the fasted and fed state were regressed against abdominal fat within treatments (Snedecor and Cochran, 1980) using the REG procedure of SAS software (SAS Institute, 1992).

13.4. RESULTS AND DISCUSSION

Serum insulin in fed and fasted state is shown in Table 7.2. In the fasted state, broilers fed diets with sunflower or linseed oil presented lower levels of insulin with respect to those fed diets with tallow or olive oil. High concentrations of insulin in broilers fed diets rich in SFA or MUFA are not accompanied by a depletion in glucose levels (Table 7.3), with respect to those fed diets rich in PUFA, which could suggest higher resistance to insulin of the first birds and an imbalance on glucose and insulin levels, with respect to broilers fed PUFA. Incorporation of SFA into cell membranes is related with reduction in metabolic rate and dysfunction of cellular receptors, changing both insulin binding and action (Storlien et al., 2000) and causing insulin resistance. Differences in glucose-insulin balance could be, in part, responsible for differences in fat deposition between broilers fed diets rich in PUFA and those fed diets rich in SFA or MUFA, as has been suggested to occur in fat and lean line chickens (Touchburn et al., 1981). Moreover, chronic hyperinsulinemia is related to higher activity of LPL in rat adipose tissue (Ong et al., 1988) and higher levels of VLDL in mammals (Zammit et al., 2001) which would enhance lipid deposition in adipose tissue. Higher insulin levels in the fasted state of broilers fed SFA are concomitant with higher content of VLDL in fasted birds of this experiment (Table 7.2) and agrees with observations made in mammals (Zammit et al., 2001). In the fed state there were no significant differences in insulin values between broilers fed diets with added fat, however, broilers fed the basal diet (without fat) presented significantly higher values with respect to those fed olive or linseed oil ($P < 0.05$). This higher insulin concentration in the fed state of broilers fed the basal diet could be consequence of the higher relative amount of carbohydrates of this diets, and could also be the reason for the lower content in serum glucose levels found in these birds (Table 7.3).

Serum cholesterol in the fasted state is presented in Table 7.3. Addition of PUFA rich fat to diet produced a reduction in serum cholesterol, respect to a diet rich in SFA and MUFA or a diet with no added fat. Thus, the effect of increasing dietary PUFA in broilers seems to be the same of that observed in mammals (Kobatake et al., 1983; Lee et al., 1988; Mendis et al., 2001).

VLDL in the fasted state was reduced in broilers fed sunflower and linseed oils ($P < 0.05$). Since broilers were in fasted state and no differences in VLDL were observed in the fed state, this reduction in VLDL in the fasted state could be explained by a higher period of VLDL secretion after feeding in

birds fed tallow or olive oil which would be still detectable after feed withdrawal. Broilers fed diets supplemented with sunflower and linseed oils present lower abdominal fat deposition (Crespo and Esteve-Garcia, 2001), suggesting that this reduction in fat deposition could be related with low levels of VLDL in these birds. However, plasma levels of VLDL were only significantly correlated with abdominal fat in birds fed the basal diet, in the fed and in the fasted state, and in those fed linseed oil in the fed state ($P < 0.05$) (Figure 7.1). Studies in birds show that VLDL is highly correlated with abdominal fat in fed birds (Griffin et al., 1982; Whitehead and Griffin, 1982). In our experiment this correlation decreases when fat is added to diet. Thus, with high levels of dietary fat, deposition of abdominal fat is not as well correlated with VLDL synthesis as in birds fed diets with lower levels of added fat. Higher endogenous fatty acid synthesis in broilers fed diets with low levels of added fat can explain the higher correlation of VLDL with abdominal fat, in these birds. In this case almost all deposited lipids can only come from hepatic VLDL. In broilers fed high fat diets, fat deposition can also be due to direct deposition of portomicrons from dietary lipids which would produce low correlation of VLDL with abdominal fat. However, in broilers fed diets added linseed oil this correlation presents significant values. Preferential oxidation of dietary PUFA (Crespo and Esteve-Garcia, 2002b) instead of deposition would produce higher dependant deposition of lipids in adipose tissues from hepatic VLDL excretion. The higher correlation of abdominal fat and VLDL in broilers fed linseed oil suggests that direct fat deposition from dietary fat is not as efficient as in broilers fed diets rich in SFA. This is because PUFA may exert other metabolic functions in preference to being deposited. This result would also explain higher endogenous de novo synthesis in broilers fed linseed oil, with respect to those fed sunflower oil or tallow (Crespo and Esteve-Garcia, 2002c), despite the lower fat deposition.

13.5. CONCLUSIONS

Results from this experiment show that broilers fed diets rich in SFA present higher levels of serum insulin and VLDL than those fed diets rich in PUFA which could be related with higher fat deposition. This suggests that in chickens dietary fatty acid profile could affect insulin secretion and sensitivity in the same way that in mammals, although this should be confirmed experimentally.

On the other hand, correlation of VLDL with abdominal fat is poor in birds fed high levels of dietary fat, suggesting that direct dietary fat deposition can occur in birds fed these diets. However, when PUFA predominate in the diet, this correlation is maintained suggesting that PUFA may exert other physiological functions, and fat deposition in birds fed diets rich in PUFA depends more on hepatic VLDL from endogenous fatty acid synthesis.

13.6. ACKNOWLEDGEMENTS

This project has been supported by INIA (Instituto Nacional Investigación Agraria, of Spanish Government) (project number SC 97-045 and fellowship 1997-2000), and CIRIT (of Catalanian

Government) (Quality Research Group with reference number GRQ93-9804). Authors are grateful to the Clinic Biochemical Unit of the Veterinary Faculty (Universitat Autònoma de Barcelona) for biochemical and insulin determinations.

13.7. REFERENCES

- Crespo, N., and E. Esteve-Garcia. 2001. Dietary fatty acid profile modifies abdominal fat deposition in broiler chickens. *Poult. Sci.* 80:71-78.
- Crespo, N., and E. Esteve-Garcia. 2002a. Dietary polyunsaturated fatty acids decrease fat deposition in separable fat depots but not in the remainder carcass. *Poult. Sci.* 81:512-518.
- Crespo, N., and E. Esteve-Garcia. 2002b. Nutrient and fatty acid deposition in broilers fed different dietary fatty acid profiles. *Poult. Sci.* 81:1533-1542.
- Crespo, N., and E. Esteve-Garcia. 2002c. Dietary linseed oil produces lower abdominal fat deposition but higher de novo fatty acid synthesis in broiler chickens. *Poult. Sci.* 81:1555-1562.
- Dupont, J., J. Chen, M. Derouet, J. Simon, B. Leclercq, and M. Taouis. 1999. Metabolic differences between genetically lean and fat chickens are partly attributed to the alteration of insulin signaling in liver. *J. Nutr.* 129:1937-1944.
- Geraert, P. A., J. C. F. Padilha, and S. Guillaumin. 1996. Metabolic and endocrine changes induced by chronic heat exposure in broiler chickens: biological and endocrinological variables. *Br. J. Nutr.* 75:205-216.
- Griffin, H. D., C. C. Whitehead. 1982. Plasma lipoprotein concentration as an indicator of fatness in broilers: development and use of a simple assay for plasma very low density lipoproteins. *Br. Poult. Sci.* 23:307-313.
- Griffin, H. D., C. C. Whitehead and L.A. Broadbent. 1982. The relationship between plasma triglyceride concentrations and body fat content in male and female broilers--a basis for selection? *Br. Poult. Sci.* 23:15-23.
- Grill, V. and E. Qvigstad. 2000. Fatty acids and insulin secretion. *Br. J. Nutr.* 83 Suppl. 1:S79-84.
- Hermier, D. 1997. Lipoprotein metabolism and fattening in poultry. *J. Nutr.* 127 Suppl. 5:805S-808S.

- Kobatake, Y., F. Hirahara, S. Innami and E. Nishide. 1983. Dietary effect of omega-3 type polyunsaturated fatty acids on serum and liver lipid levels in rats. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.* 29:11-21.
- Lee, J. H., M. Sugano and T. Ide. 1988. Effects of various combinations of omega 3 and omega 6 polyunsaturated fats with saturated fat on serum lipid levels and eicosanoid production in rats. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.* 34:117-129.
- Mendis, S., U. Samarajeewa and R. O. Thattil. 2001. Coconut fat and serum lipoproteins: effect of partial replacement with unsaturated fats. *Br. J. Nutr.* 85:583-589.
- Ong, J. M., T. G. Kirchgessner, M. C. Schotz and P. A. Kern. 1988. Insulin increases the synthetic rate and messenger RNA level of lipoprotein lipase in isolated rat adipocytes. *J. Biol. Chem.* 263:12933-12938.
- Sanz, M., A. Flores, P. Pérez de Ayala, and C. J. López-Bote, 1999. Higher lipid accumulation in broilers fed on saturated fats than in those fed on unsaturated fats. *Br. Poult. Sci.* 40:95-101.
- Sanz, M., C. J. López-Bote, D. Menoyo, and J. M. Bautista, 2000. Abdominal fat deposition and fatty acid synthesis are lower and b-oxidation is higher in broiler chickens fed diets containing unsaturated rather than saturated fat. *J. Nutr.* 130:3034-3037.
- SAS Institute, 1992. *SAS User's Guide: Statistics.* SAS Institute Inc., Cary, NC.
- Sinsigalli, N. A., J. P. McMurtry, J. A. Cherry and P. B. Siegel. 1987. Glucose tolerance, plasma insulin and immunoreactive glucagon in chickens selected for high and low body weight. *J. Nutr.* 117:941-947.
- Snedecor, G. W., and W. G. Cochran, 1980. *Statistical methods.* 7th ed. Iowa State University Press, Ames, IA.
- Storlien, L. H., J. A. Higgins, T. C. Thomas, M. A. Brown, H. Q. Wang, X. F. Huang and P. L. Else. 2000. Diet composition and insulin action in animal models. *Br. J. Nutr.* 83 Suppl. 1:S85-90.
- Touchburn, S., J. Simon and B. Leclercq. 1981. Evidence of a glucose-insulin imbalance and effect of dietary protein and energy level in chickens selected for high abdominal fat content. *J. Nutr.* 111:325-335.
- Whitehead, C. C. and H. D. Griffin. 1982. Plasma lipoprotein concentration as an indicator of fatness in broilers: effect of age and diet. *Br. Poult. Sci.* 23:299-305.
- Zammit, V. A., I. J. Waterman, D. Topping and G. McKay. 2001. Insulin stimulation of hepatic triacylglycerol secretion and the etiology of insulin resistance. *J. Nutr.* 131:2074-2077.

13.8. TABLAS Y FIGURAS TRABAJO EXPERIMENTAL 5

Table 7.1: Ingredients, nutrient composition and fatty acid profile of experimental diets¹.

Ingredients	B	T	OO	SO	LO
Wheat	68.52	55.42	55.52	55.52	55.52
Soybean meal (48% CP)	25.82	30.78	30.76	30.76	30.76
Extruded soybean	1.107	-	-	-	-
Tallow	-	10	-	-	-
Olive oil	-	-	10	-	-
Sunflower oil	0.36	0.03	-	10	-
Linseed oil	-	-	-	-	10
DL-Methionine	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
L-Lysine	0.23	0.14	0.14	0.14	0.14
L-Threonine	0.03	-	-	-	-
Calcium carbonate	1.47	1.41	1.37	1.37	1.37
Dicalcium Phosphate	1.43	1.25	1.25	1.25	1.25
Salt	0.4	0.32	0.32	0.32	0.32
Vitamin-mineral premix ²	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4
Calculated Gross energy (Kcal/kg)	2,828	3,300	3,300	3,300	3,300
Analyzed nutrient content					
Crude protein (%)	21.2	21.7	21.8	21.8	21.7
Lipid content (%)	3.29	12.39	12.33	12.08	11.94
Crude fiber (%)	3.21	2.69	2.75	2.68	2.81
Dry matter (%)	89.2	90.6	91.0	90.9	90.8
Fatty acid composition (%) ³					
SFA	18.0	48.2	17.0	12.1	9.10
MUFA	20.1	42.0	63.4	23.9	19.1
PUFA	62.0	9.80	19.6	64.0	71.9
n9 serie	18.9	37.7	60.2	23.1	18.2
n6 serie	57.4	8.00	18.1	63.1	23.1
n3 serie	4.60	1.85	1.55	0.88	48.8
n6:n3	12.6	4.69	11.6	72.0	0.47
SFA:UFA	0.22	0.94	0.20	0.14	0.10

¹ B = Basal diet; T = Tallow diet; O = Olive oil diet; S = Sunflower oil diet; L = Linseed oil diet.

² Composition of vitamin and mineral premix: 1 Kg of feed contains: vitamin A, 12000 UI; vitamin D₃, 5000UI; vitamin E, 30 mg; vitamin K₃, 3 mg; vitamin B₁, 2.2 mg; vitamin B₂, 8 mg; vitamin B₆, 5 mg; vitamin B₁₂, 11 Mg; folic acid, 1.5 mg; biotin 150 Mg, calcium pantothenate, 25 mg; nicotinic acid, 65 mg; Mn, 60 mg; Zn, 40 mg; I, 0.33 mg; Fe, 80 mg; Cu, 8 mg; Se, 0.15 mg; and ethoxyquin, 150 mg.

³SFA = Saturated fatty acids; UFA = Unsaturated fatty acids; MUFA = Monounsaturated fatty acids; PUFA = Polyunsaturated fatty acids.

Table 7.2: Plasma levels of VLDL and serum levels of insulin in fasted and fed states¹:

Treatment	Insulin (ng/ml)		VLDL (mg/ml)	
	Fasted state	Fed state	Fasted state	Fed state
B	0.212	0.908	0.030	0.099
T	0.386	0.663	0.027	0.130
OO	0.179	0.555	0.028	0.113
SO	0.084	0.664	0.017	0.102
LO	0.097	0.496	0.017	0.105
Root MSE	0.6601	0.1992	0.0101	0.0435
Contrasts				
B vs. T, TO, SO, LO	N.S.	*	*	N.S.
B. vs. T, OO	N.S.	*	N.S.	N.S.
B vs. SO, LO	N.S.	*	**	N.S.
T, OO vs. SO, LO	*	N.S.	*	N.S.

¹Values are means of 14 determinations

²B: Basal diet without supplemental fat; T: Diet with 10% of added tallow; OO: Diet with 10% of added olive oil; SO: Diet with 10% of added sunflower oil;

LO: Diet with 10% of added linseed oil.

N.S.: $P > 0.05$; * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$

Table 7.3: Glucose concentration in fasted and fed states and cholesterol concentration in the fasted state (mg/dl)

Treatment	Glucose		Cholesterol
	Fasted state	Fed state	Fasted state
B	218	212	159
T	220	226	156
OO	226	223	149
SO	218	234	139
LO	223	227	119
Root MSE	18.5	16.9	35.3
Contrasts			
B vs. T, TO, SO, LO	N.S.	*	N.S.
B. vs. T, OO	N.S.	0.056	N.S.
B vs. SO, LO	N.S.	*	*
T, OO vs. SO, LO	N.S.	N.S.	*

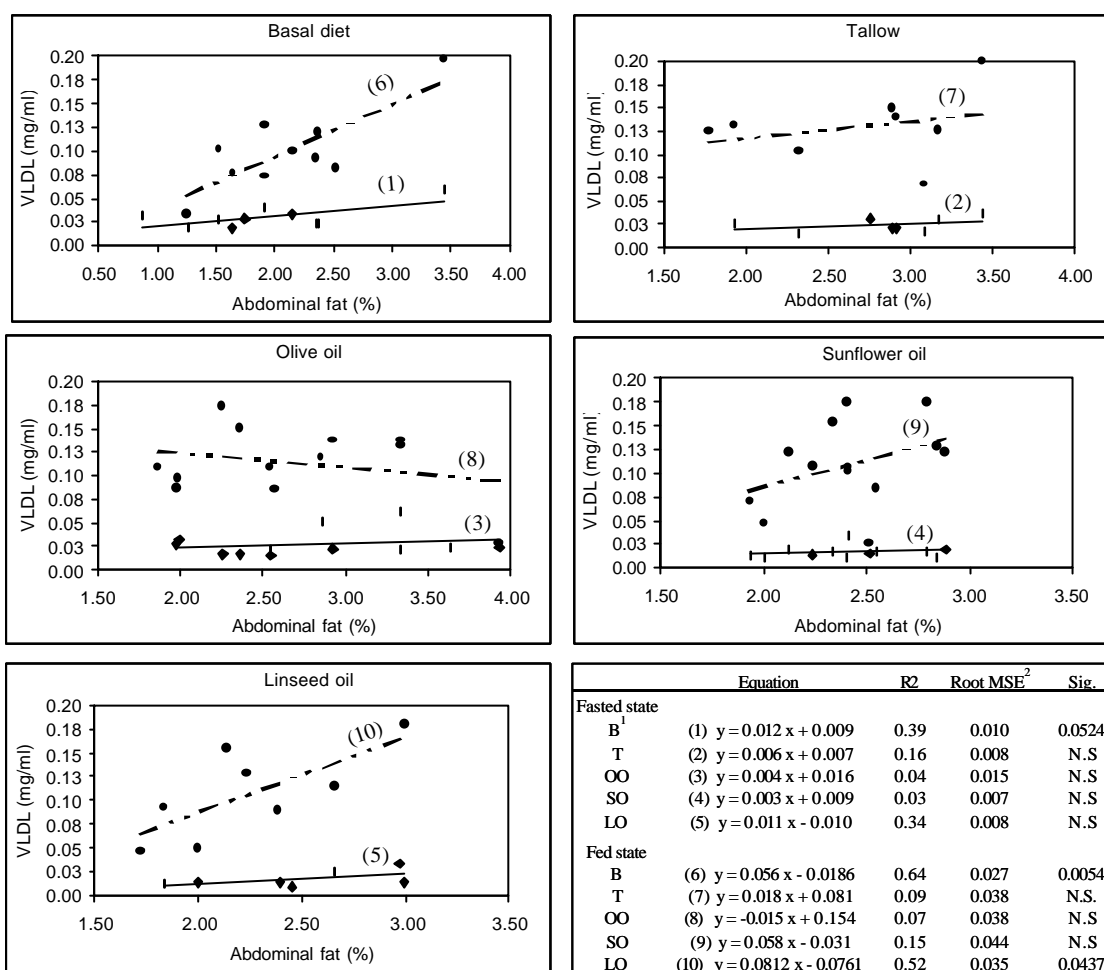
¹Values are means of 14 determinations

²B: Basal diet without supplemental fat; T: Diet with 10% of added tallow;

OO: Diet with 10% of added olive oil; SO: Diet with 10% of added sunflower oil; LO: Diet with 10% of added linseed oil.

N.S.: $P > 0.05$; * $P < 0.05$;

Figure 7.1: Linear regression of plasma VLDL (mg/ml) against abdominal fat (%).



(◆): Birds in fasted state; (●): Birds in the fed state. NS: Non significant correlation. B= Basal diet without supplemental fat ; T= diet with 10% added tallow; OO= diet with 10% added olive oil; SO= diet with 10% added sunflower oil; LO= diet with 10% added linseed oil.

SECCIÓN E: DISCUSIÓN GENERAL

En todos los experimentos realizados se observó que la inclusión de aceite de girasol o de linaza en el pienso produjo una reducción del porcentaje de grasa abdominal respecto a los pollos alimentados con dietas con sebo o con aceite de oliva. Los pollos alimentados con aceite de girasol o linaza presentaron una reducción en el porcentaje de grasa abdominal siempre superior al 15%. Dichos resultados confirman la hipótesis de que las dietas ricas en AGPI reducen la deposición de grasa abdominal en el pollo de carne al igual que los resultados obtenidos por otros autores (Sanz y col., 1999).

Tal y como se observa en el Experimento 2, presentado en el Trabajo Experimental 2, la reducción en la deposición de grasa abdominal en pollos alimentados con girasol o linaza, respecto a los alimentados con sebo, se acompaña de una disminución en otros depósitos lipídicos separables. Dicho efecto podría implicar una reducción significativa en la deposición de grasa corporal, ya que alcanza valores de 34g y 27,6g para los pollos alimentados con girasol y linaza, respectivamente. Sin embargo, no se realizó la determinación de la grasa corporal total de estos animales y en los pollos en los cuales se determinó (Experimento 1 del Trabajo Experimental 2 y Trabajo Experimental 3), no se obtuvieron diferencias detectables estadísticamente, posiblemente consecuencia de un retraso en el crecimiento de dichos pollos.

Sin embargo, otros autores (Sanz y col., 2000a), al determinar la grasa corporal en pollos alimentados con pienso con un 8% de una mezcla de sebo y manteca y pienso con un 8% de aceite de girasol, sí obtuvieron una reducción de 1.4% en la grasa corporal de los pollos alimentados con girasol, respecto a los alimentados con la mezcla de sebo y manteca. Por tanto, de estos trabajos se puede concluir que la reducción en grasa abdominal en los pollos alimentados con una grasa rica en AGPI se acompaña de una reducción en la grasa corporal total. Tal y como se discute en el Trabajo Experimental 2, dicha reducción podría ser consecuencia de la reducción de los depósitos lipídicos separables, mientras que la grasa del resto de la carcasa podría permanecer constante o reducirse de forma poco importante. Un efecto más acentuado en los depósitos lipídicos que en el resto de grasa de la carcasa podría ser consecuencia de su mayor contenido en triglicéridos, principal fracción lipídica de los tejidos adiposos de reserva de energía.

Tal y como se presenta en el Trabajo Experimental 3, la reducción en la deposición de grasa en los pollos alimentados con dietas ricas en AGPI parece ser consecuencia de una mayor oxidación de éstos y, por tanto, una menor eficiencia energética de dichas raciones para la deposición de ácidos grasos. Los valores de oxidación obtenidos en los pollos alimentados con las dietas con girasol no fueron tan evidentes como los obtenidos en los pollos alimentados con las dietas con linaza. En dicho experimento, las diferencias en grasa abdominal fueron más diluidas que en los otros experimentos realizados y las aves alimentadas con girasol, aunque presentaron valores inferiores, no presentaron diferencias significativas respecto a las aves alimentadas con sebo.

Diferentes autores han mostrado el efecto estimulador de los AGPI sobre la oxidación lipídica, tanto en aves como en mamíferos. Sanz y col. (2000b) observaron mayor actividad *in vitro* de los enzimas *Carnitín Palmitoil transferasa-I* y *L-3-hidroxiacil-CoA deshidrogenasa* de extractos mitocondriales de células cardíacas en pollos alimentados con dietas con girasol, respecto a pollos alimentados con dietas con sebo. Shimomura y col. (1990) determinaron el cociente respiratorio de ratas alimentadas con aceite de cártamo (rico en ácido linoleico) respecto a ratas alimentadas con sebo y concluyeron que el aceite de cártamo estimulaba la oxidación de ácidos grasos, respecto al sebo.

Por tanto, no se puede descartar que la reducción en grasa abdominal de los pollos alimentados con dietas con girasol respecto a los alimentados con dietas con sebo, observada en la mayoría de trabajos experimentales presentados en esta tesis, no sea consecuencia en parte y al igual que en los pollos alimentados con dietas con linaza, a una mayor oxidación de los ácidos grasos.

Paralelamente a una mayor oxidación, y tal y como se muestra en el Trabajo Experimental 4, parece ser que la inhibición en la síntesis endógena de ácidos grasos producida por una dieta rica en grasa (Donaldson, 1985) es inferior en los pollos alimentados con aceite de linaza. Así, los valores de lipogénesis *in vivo* mostraron ser significativamente superiores en las aves alimentadas con aceite de linaza, respecto a las alimentadas con aceite de girasol o sebo. Junto con la mayor oxidación de AGPI, esta mayor síntesis de ácidos grasos endógenos, con el consecuente coste energético (Emmans, 1994), contribuiría a un mayor gasto energético y por tanto a una menor disponibilidad de energía para su deposición.

El efecto de los ácidos grasos dietéticos sobre la actividad lipogénica ha sido estudiada por varios autores en mamíferos. Wilson y col. (1990) midieron la capacidad lipogénica hepática determinando la incorporación de $^3\text{H}_2\text{O}$ a la fracción de lípidos saponificables. Los resultados obtenidos sugieren que la incorporación de aceite de cártamo a la dieta de ratas producía una inhibición más pronunciada de la lipogénesis hepática que la incorporación de sebo, respecto a una dieta control sin grasa añadida. Dicha inhibición parece ser mediada por la supresión en la expresión genética de los enzimas lipogénicos hepáticos según sugieren algunos autores (Blake y Clarke, 1990; Iritani y col., 1998).

Contrariamente a estos resultados, Gaíva y col. (1996) obtienen mayor lipogénesis en el hígado y la grasa retroperitoneal de ratas alimentadas con dietas ricas en AGPI de la serie n-6, respecto a ratas alimentadas con dietas ricas en AGS. Por otro lado, en el trabajo de Kouba y Mourot (1998) se observa mayor lipogénesis en el tejido adiposo subcutáneo de cerdos alimentados con dietas con aceite de maíz, respecto a cerdos alimentados con dietas con sebo. Dichos resultados sugieren la

posibilidad de que existan diferencias en el efecto de los ácidos grasos de la dieta sobre la capacidad lipogénica del tejido hepático y el tejido adiposo en mamíferos.

En aves, Sanz y col. (2000b) midieron la actividad lipogénica en broilers alimentados con una dieta con aceite de girasol y una dieta con sebo. La dieta rica en AGPI reducía la actividad específica *in vitro* del enzima *ácido graso sintasa* respecto a la dieta rica en AGS. Sin embargo, en el Trabajo Experimental 4 de la presente tesis se observa como la incorporación de $^3\text{H}_2\text{O}$ a la fracción de lípidos hepáticos saponificables es significativamente superior en pollos alimentados con dietas con linaza, respecto a los alimentados con dietas con sebo o aceite de girasol y no se hallaron diferencias entre los pollos alimentados con aceite de girasol y sebo.

Dicha discrepancia en los resultados obtenidos podría ser consecuencia de los diferentes métodos utilizados para la determinación de la actividad lipogénica. Por tanto, sería necesaria la realización de más estudios al respecto, para determinar con seguridad cuál es el papel que juegan los diferentes ácidos grasos de la dieta sobre la actividad lipogénica del broiler.

Por otro lado, tanto con la disminución en la lipogénesis producida por los AGPI de la serie n-6 observada por Sanz y col. (2000b), como con el aumento de la lipogénesis producida por los AGPI de la serie n-3 y el efecto similar de los AGPI de la serie n-6 y los AGS, observada en el Trabajo Experimental 4, un resultado común de ambos grupos de investigación es que los AGPI de la dieta reducen la deposición de grasa en el broiler.

Por tanto, se podría sugerir que no es la modificación de la actividad lipogénica la principal causa de la reducción de la deposición de grasa por los AGPI de la dieta, sino que sería la mayor actividad oxidativa de ácidos grasos y por tanto, la menor eficiencia energética de las dietas suplementadas con dichos ácidos grasos para la deposición de energía y, posiblemente, la desviación de esta energía para la deposición de proteína. Dicha hipótesis se refuerza si se considera la escasa contribución de la síntesis endógena de ácidos grasos a la deposición de grasa en pollos alimentados con dietas con un alto porcentaje de inclusión de grasa.

En el trabajo de Donaldson (1985) la lipogénesis, medida por la incorporación de ^3H en los ácidos grasos hepáticos, se redujo casi hasta una quinta parte al pasar de una dieta con un 2% a una dieta con un 8.6% de grasa (con una misma concentración energética) manteniéndose el porcentaje de grasa corporal constante. Por tanto, la deposición de grasa corporal en los pollos alimentados con las dietas ricas en grasa se debe principalmente a la deposición directa de la grasa dietética, al menos en un 80%. Dicha deposición compensa la reducción en la actividad lipogénica de forma que al aumentar la inclusión de grasa en la dieta manteniendo la concentración energética, la deposición de grasa corporal se mantiene constante.

En el Trabajo Experimental 3, también se sugiere que la síntesis endógena de ácidos grasos repercute de forma mínima a la deposición de grasa en el broiler alimentado con dietas ricas en grasa. Aunque los valores de síntesis endógena sugeridos son bastante inferiores a los obtenidos por Donaldson (1985), dicha diferencia es probablemente consecuencia del cálculo indirecto de dicho valor: se hace un cálculo a partir de los datos obtenidos del balance de ácidos grasos, por lo que no es posible considerar los ácidos grasos sintetizados *de novo*, que han podido ser oxidados.

El hecho de que la lipogénesis en pollos alimentados con dietas ricas en grasa tenga esta baja repercusión sobre la deposición total de grasa hace pensar, de nuevo, que, aunque diferentes tipos de grasa dietética produzcan mayor o menor inhibición de la lipogénesis, dicho efecto no conduciría a cambios en la deposición de grasa, puesto que quedaría diluido por la deposición directa de la grasa dietética.

En conclusión, se podría decir que el efecto del perfil de ácidos grasos de la dieta sobre la deposición de grasa corporal se debe principalmente a la eficiencia de deposición de la grasa dietética o diferente oxidación de los ácidos grasos y por tanto, diferente utilización de la energía de la ración. Los valores superiores de insulina obtenidos en pollos alimentados con sebo y aceite de oliva respecto a los alimentados con aceite de girasol y linaza (Trabajo Experimental 5) podrían estar implicados en dicho efecto. El hecho de que dichas diferencias hayan sido observadas en fase de ayuno, sugiere unos valores basales de insulina mayores en los pollos alimentados con las dietas más saturadas o monoinsaturadas, lo cual podrían relacionarse con una mayor actividad LPL en el tejido adiposo, como se ha sugerido en mamíferos (Ong y col., 1988), y por tanto, mayor eficiencia de deposición de grasa.

Un aspecto a considerar de los experimentos realizados son los valores obtenidos en los pollos alimentados con aceite de girasol. Aunque el efecto sobre la deposición de grasa en el pollo parece ser muy similar al producido por el aceite de linaza, los resultados obtenidos en algunos de los parámetros estudiados difieren entre ambos tipos de grasa y, en algunos casos los valores obtenidos en los pollos alimentados con el aceite de girasol son similares a los obtenidos en los pollos alimentados con sebo. Tal es el caso de los valores de lipogénesis *in vivo*, que son significativamente inferiores a los obtenidos en los pollos alimentados con aceite de linaza, y similares a los obtenidos en los pollos alimentados con sebo, contrariamente a lo obtenido por otros autores (Wilson y col., 1990; Gaíva y col., 1996; Kouba y Mouro, 1998; Sanz y col., 2000b).

Por otro lado, tanto el aceite de girasol como el de linaza reducen la concentración plasmática de VLDL en estado de ayuno, tal y como se muestra en el Trabajo Experimental 5. Sin embargo, la correlación entre la concentración de VLDL y la grasa abdominal sólo se mantiene en los animales

alimentados con aceite de linaza en la fase postprandial. Dichos hallazgos hacen pensar en diferentes mecanismos de acción de los ácidos grasos de la serie n-6 y n-3 sobre el metabolismo lipídico de aves, lo cual podría ser sujeto de investigaciones posteriores.

14. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Blake, W. L., S. D. Clarke, 1990. Suppression of rat hepatic fatty acid synthase and S14 gene transcription by dietary polyunsaturated fat. *J. Nutr.* 120:1727-1729.
- Donaldson, W.E., 1985. Lipogenesis and body fat in chicks: Effects of calorie-protein ratio and dietary fat. *Poult. Sci.* 64:1199-1204.
- Emmans, G. C., 1994. Effective energy: a concept of energy utilization applied across species, *Br. J. Nutr.* 71:801-821.
- Gaiva, M. H., T. C. Pithon, and C. M. Oller, 1996. Effect of saturated and polyunsaturated fatty acids rich diets on hepatic and adipose tissue lipid metabolism in rats. *Internat. J. Vit. Nutr. Res.* 66:258-262.
- Iritani, N., M. Komiya, H. Fukuda, and T. Sugimoto, 1998. Lipogenic enzyme gene expression is quickly suppressed in rats by a small amount of exogenous polyunsaturated fatty acids. *J. Nutr.* 128:967-972.
- Kouba, M., and J. Mourot, 1998. Effect of a high linoleic acid diet on D9-desaturase activity, lipogenesis and lipid composition of pig subcutaneous adipose tissue. *Reprod. Nutr. Dev.* 38:31-37.
- Ong, J. M., T. G. Kirchgessner, M. C. Schotz and P. A. Kern. 1988. Insulin increases the synthetic rate and messenger RNA level of lipoprotein lipase in isolated rat adipocytes. *J. Biol. Chem.* 263:12933-12938.
- Sanz, M., A. Flores, and C. J. López-Bote, 2000a. The metabolic use of energy from dietary fat in broilers is affected by fatty acid saturation. *Br. Poult. Sci.* 41:61-68.
- Sanz, M., A. Flores, P. Pérez de Ayala, and C. J. López-Bote, 1999. Higher lipid accumulation in broilers fed on saturated fats than in those fed on unsaturated fats. *Br. Poult. Sci.* 40:95-101.
- Sanz, M., C. J. López-Bote, D. Menoyo, and J. M. Bautista, 2000b. Abdominal fat deposition and fatty acid synthesis are lower and b-oxidation is higher in broiler chickens fed diets containing unsaturated rather than saturated fat. *J. Nutr.* 130:3034-3037.
- Shimomura, Y., T. Tamura, and M. Suzuki, 1990. Less body fat accumulation in rats fed safflower oil diet than in rats fed a beef tallow diet. *J. Nutr.* 120:1291-1296.
- Wilson, M. D.; W. L. Blake; L. M. Salaty y S. D. Clarke (1990). Potency of polyunsaturated and saturated fats as short-term inhibitors of hepatic lipogenesis in rats. *J. Nutr.* 120:544-552

SECCIÓN F: CONCLUSIONES

1. Las dietas ricas en AGPI, tanto de la serie n-6 como de la serie n3, disminuyeron la deposición de grasa abdominal y la deposición de grasa en otros depósitos lipídicos separables, en comparación con las dietas ricas en AGS o AGMI.
2. Los pollos alimentados con linaza presentaron mayor oxidación de ácidos grasos que los alimentados con sebo u oliva, lo cual estaría relacionado con su menor deposición de grasa. Sin embargo, no se encontraron diferencias en la oxidación de ácidos grasos entre los pollos alimentados aceite de girasol y aquellos alimentados con sebo o aceite de oliva.
3. Los pollos alimentados con linaza presentaron mayor síntesis endógena de ácidos grasos, determinada en base a la incorporación de ^3H a los ácidos grasos hepáticos, que los pollos alimentados con sebo o girasol.
4. Cuando se utilizan dietas con un alto porcentaje de grasa, la síntesis endógena de lípidos supone un pequeño porcentaje sobre el total de grasa depositada, por lo que, en estas condiciones, una modificación en la actividad lipogénica no habría de suponer una modificación en la deposición de grasa corporal.
5. Los pollos alimentados con dietas ricas en AGPI, tanto de la serie n-6 como de la serie n-3, presentan una concentración plasmática de VLDL e insulina en estado de ayuno menor que los pollos alimentados con una dieta rica en AGS, lo cual se relacionaría con la menor deposición de grasa observada en estas aves.
6. Los AGPI de la serie n-6 y n-3, aunque afecten de forma similar a la deposición de grasa en el pollo, parecen presentar diferencias en algunos de los mecanismos fisiológicos en los cuales están implicados.