

Algunos efectos fisiológicos de la ingestión de *Vicia ervilia*, W. (yeros) en pollos

J. Palacios y M. del Carmen de Lemus *

Laboratorio de Biología
Colegio Universitario de La Rioja (Logroño)

(Recibido el 10 de diciembre de 1980)

J. PALACIOS and M. C DE LEMUS. *Physiological Effects from Ingestion of Vicia ervilia*, W. in Chickens. Rev esp. Fisiol., 38, 311-316. 1982.

Five week old chickens have been fed a diet of 30 % lentils. The animals showed an 80 % growth decrease and a higher excitability level in relation to the control group. The animals were slaughtered after the 2nd, 3rd, 4th and 5th week of age. The gall-bladder showed a 20 % size increase in the 4th week. The relation pancreas weight/body weight is significant with the highest proportion at 34 % in the 4th week.

No important differences have been observed in D.N.A. content in pancreatic tissue between animals fed the lentils diet and the control group.

The enzymatic activity has been analyzed. The proteolytic activity varies significantly, being 22 % higher in the lentils group in the 3rd week, and 30 % in the 4th week. The amylasic activity showed significant statistical differences, being 23 % higher in the 5th week.

Los efectos fisiológicos de dietas con leguminosas en diferentes animales han sido objeto de numerosas investigaciones. Pero quedan algunas especies sobre las que la información es limitada. Así ocurre en *V. ervilia* W, a pesar de que en España se han realizado sobre ella varios trabajos (1, 9, 14).

La semilla de yeros, de cultivo ancestral en el área mediterránea, podría constituir una alternativa, como sustitutivo de la soja, en dietas animales.

Cuando las leguminosas se administran crudas, a pesar de su alto contenido en nutrientes, originan, en algunos casos, efec-

tos fisiológicos nocivos debido a la existencia de sustancias más o menos tóxicas.

Es conocida la inhibición del crecimiento que produce la ingestión de soja cruda en diferentes animales de experimentación (2, 6, 15, 20), siendo la inhibición menos acusada en animales adultos (17, 26).

Efectos sobre el páncreas fueron detectados en pollos (8) y en otros animales (23). Un aumento del tamaño de esta glándula se produce alimentando pollos y ratas con dietas que contienen inhibidor de Kunitz (10, 24), de Bowman-Birk (11) e inhibidor de *Vicia faba*.

Algunos autores consideran que lo que se origina es una hiperplasia caracterizada por el incremento en el número de células del tejido pancreático (4, 12).

Otros (3) afirman que se trata de una

* Escuela universitaria de Profesorado de EGB. Logroño.

hipertrofia como resultado de un incremento en el tamaño de las células, más que en un aumento de su número. Por su parte, la vesícula parece responder con un aumento de la secreción biliar y una dilatación de la glándula (16, 21).

Con anterioridad, se han estudiado en aves algunos efectos de dietas con elevada proporción en yeros (21). Continuando en esta línea, se ha tratado de analizar en este trabajo, aparte de los índices de crecimiento y síntomas de toxicidad, la influencia de estas dietas en la vesícula biliar y de manera especial sobre el páncreas. En esta glándula se ha determinado el peso, las dimensiones, su actividad proteolítica y amilásica y el contenido en DNA del tejido pancreático.

Material y métodos

Se han utilizado polluelos machos Leghorn White (líneas H.N.) de tipo ligero, de un día de edad y de 35 g de peso medio, alimentándolos con una dieta de tipo estándar y otra conteniendo un 30 % de «yeros» y cuya composición se detalla en la tabla I.

Marcha experimental. Se mantienen dos grupos de 50 animales cada uno, durante 5 semanas, controlando el peso individual y la cantidad de alimento consumido. A lo largo de la prueba, se tienen en cuenta las siguientes manifestaciones: excitabilidad, apetencia, agresividad, picaje, decaimiento y alteraciones locomotoras.

Al final de cada semana, y tras 16-20 horas de ayuno, se sacrifican por electrocución 10 animales de cada lote.

En el primer control (1.ª semana) se pesan en grupo, antes de aislarlos; en los tres siguientes, se pesan individualmente, después del período de ayuno.

El páncreas se aísla del asa del duodeno, se lava en suero fisiológico, pesándolo y midiendo su longitud. Asimismo se mide

la vesícula biliar (12, 25). Ambas glándulas se conservan en tubos de ensayo sumergidos en suero fisiológico y congeladas a temperatura de -25°C .

Homogenización del páncreas. Previa descongelación, cada pieza se introduce en tubos conteniendo solución tampón fosfato sódico 0,2 M (pH 7,05) (19), manteniéndolos rodeados por una mezcla frigorífica.

Se homogeniza con un aparato «X-1020 de Inter. Lab. App» a 25.000 r.p.m. durante tres períodos de 15 s con pausas de 3 s. El homogenizado se lleva a dilución 1:10 con la solución tampón. Inmediatamente se toma la cantidad necesaria para la determinación del DNA. El resto se centrifuga a 6.000 r.p.m. en una centrifuga Hettich en ambiente refrigerado. Acto seguido, se toman del sobrenadante los volúmenes necesarios para preparar las diluciones.

En la determinación de las proteínas se realizan diluciones 1:500 y 1:2.000. Para medir la actividad proteolítica se ensayan diluciones de 1:10, 1:20 y 1:50, siendo esta última la más adecuada para el páncreas de la 3.ª y 4.ª semanas. Los zimógenos se activan con una solución de enterokinasa (2 mg/ml) durante 30 minutos.

En la medida de la actividad amilásica se emplean diluciones 1:50.000 y 1:100.000, según el peso del páncreas. Una fracción de la glándula, fijada en formol y teñida con hematoxilina, se utiliza para su estudio histológico.

En los análisis de la dieta se siguen las normas UNE:

— Determinación de humedad y materias volátiles: UNE - 64 - 015.

— Determinación cuantitativa de la proteína bruta: UNE - 64 - 012.

— Determinación cuantitativa de la grasa bruta o extracto etéreo: UNE - 64 - 021.

Las proteínas del páncreas se determinan por el método de LOWRY. Para la

cuantificación del DNA se sigue el método de BURTON (7).

Resultados y Discusión

En primer lugar, se confirma el efecto de inhibición del desarrollo corporal (14, 21). Así, los *índices de crecimiento*, en los animales que recibieron la dieta de yeros, presentan una inhibición del orden del 83 %.

El *comportamiento* del grupo problema acusa una mayor excitabilidad, que se refleja durante la 2.^a y 3.^a semanas, por la aparición de lesiones por picaje en alas y párpados. Comen con avidez, pero escarban y seleccionan una parte de la mezcla dejando cada día residuos que alcanzan un 30 %. Algunos animales, en porcentaje inferior al 15 %, pasan de dos a tres días con dificultad para mantenerse en pie, pero se recuperan y no se produce ninguna baja.

Tabla I. Composición en % de las dietas experimentales empleadas en la alimentación de los pollos.

	Dieta estándar	Dieta yeros 30 %
Maíz USA	63,8	38,0
Soja 48	26,5	—
Yeros	—	30,0
Gluten	3,6	—
Cebada	—	7,0
Alfalfa	—	8,0
Salvado	—	1,0
Pescado	3,4	14,0
CO ₂ Ca	0,5	1,2
ClNa	0,3	0,3
PO ₄ HCa	0,9	3
Corrector	1,0	0,2
<i>Composición química</i>		
Sustancia seca	87,0	89,0
Proteína bruta	21,1	20,0
Extracto etéreo	4,7	3,5
Cenizas	5,2	5,0
Fibra bruta	2,7	4,7
Lisina	1,22	1,31
Metionina + Cisteína	0,82	0,69

Tras la disección se toman las *dimensiones* de la vesícula biliar, para obtener la razón longitud/anchura de la glándula, a la cuarta semana de vida (tabla II). Analizando los resultados se observa que la razón superior (0,57), corresponde al grupo alimentado con yeros. Esto parece indicar que la glándula hepática está implicada en el proceso. Al mismo tiempo, se confirman los resultados obtenidos en trabajos anteriores, utilizando soja cruda (16) o yeros (21). Estudios posteriores deben investigar el motivo de este fenómeno.

Las primeras medidas realizadas relativas al páncreas corresponden al peso de la glándula; con los datos obtenidos, se calcula la razón entre el peso del páncreas (P.P.) y el peso del animal (P.A.).

El grupo alimentado con yeros presenta una curva (fig. 1) que, desde un valor de 0,40 a la 2.^a semana, aumenta hasta 0,57 en la 4.^a, declinando al final de la 5.^a semana (0,45). Esto indica un aumento relativo del peso de la glándula que contrasta con los valores que alcanza el grupo de animales estándar, en el que la relación permanece por debajo del valor inicial a lo largo de todo el experimento.

En trabajos realizados con soja cruda (12), se ha encontrado que la citada relación es muy superior, pues alcanza un va-

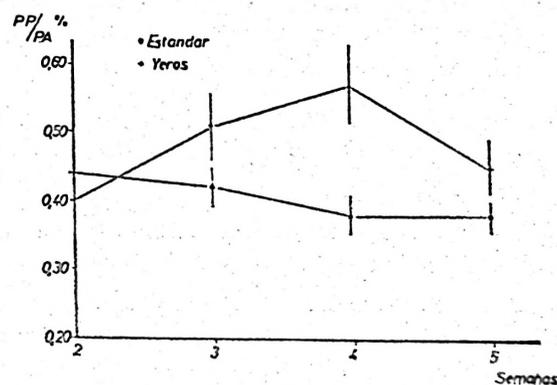


Fig. 1. Peso del páncreas referido al peso corporal.

Tabla II. Promedio de las dimensiones de la vesícula biliar de pollitos de 4 semanas alimentados con dieta estándar y dieta conteniendo 30 % de yeros. Número de animales: 10.

Dietas	Peso animal g	Longitud vesícula cm	Anchura vesícula cm	Relación A.V./L.V.
Estándar	257,6 ± 23,3	1,49 ± 0,15	0,70 ± 0,08	0,47 ± 0,07
Yeros	86,6 ± 11,6	1,34 ± 0,16	0,77 ± 0,2	0,57 ± 0,015
P		< 0,02	< 0,05	< 0,05

lor de 0,78. Sin embargo, las diferencias mayores se producen asimismo entre la 3.^a y 4.^a semanas (2, 11, 26). Este hecho hace pensar que en la primera fase de la vida hay una respuesta, por parte de la glándula, a ciertas leguminosas, manifestada en un aumento de su peso.

Tratando de averiguar la razón de este incremento relativo de peso, se realiza el análisis cuantitativo de DNA, observando que las diferencias entre ambos grupos no son significativas. Se obtiene, para el grupo alimentado con yeros, un valor medio de $11,09 \pm 0,51 \mu\text{g}/\text{mg}$ y para el grupo testigo $10,78 \pm 0,6 \mu\text{g}/\text{mg}$, lo que permite deducir que sólo tiene lugar una relativa hipertrofia de la glándula.

El estudio microscópico del páncreas no presenta diferencias histológicas entre uno y otro grupo.*

El análisis estadístico de los resultados

* Dr. A. Gracia. Servicio de Histopatología. Residencia S.S. Logroño.

obtenidos al analizar la actividad proteolítica del páncreas (tabla II), revela una diferencia significativa que en la 3.^a semana es un 22 % más elevada en el grupo alimentado con yeros, siendo un 30 % a la 4.^a semana. Posiblemente este hecho explica el correlativo incremento de peso del páncreas, antes comentado y, como consecuencia, de la mayor actividad de la glándula.

Estos resultados son comparables a los que aparecen en la literatura en trabajos realizados con pollitos alimentados con soja cruda (4, 11, 12, 25). De la misma forma, en experimentos realizados con cobayas se produce un incremento de la actividad proteolítica hasta la 4.^a semana, en que se inicia un descenso de la misma (23).

Finalmente, los resultados del estudio de la actividad amilásica del páncreas, a la 3.^a y 5.^a semanas de vida, se recogen en la tabla III. Aparecen diferencias significativas en la 5.^a semana, en la que el grupo alimentado con yeros llega a mos-

Tabla III. Actividad proteolítica específica (μ/mg de proteínas) de homogenados de páncreas de pollitos alimentados a lo largo de cinco semanas con dieta estándar y con dieta conteniendo un 30 % de yeros.

Unidad de actividad enzimática: cantidad de enzima que, bajo condiciones estándar (35° de temperatura, 6 ml de volumen final conteniendo 0,1 de hemoglobina) hidroliza hemoglobina de manera que los productos de la hidrólisis formados por minuto, tienen la misma extinción que 1 mmol de tirosina. Número de animales: 6.

Dietas	2 semanas	3 semanas	4 semanas	5 semanas
Estándar	—	0,22 ± 0,05	0,21 ± 0,07	0,28 ± 0,13
Yeros	0,14 ± 0,09	0,27 ± 0,07	0,30 ± 0,1	0,42 ± 0,13
P		N.S.	< 0,01	N.S.

Tabla IV. Actividad amilásica, expresada en actividad específica de homogenados de páncreas de pollitos alimentados con dieta estándar y con dieta conteniendo 30 % de yeros. Una unidad de enzima es la cantidad de alfa-amilasa que cataliza la formación de un microequivalente de grupos reductores por minuto, bajo condiciones estándar. N.º de animales: 5.

Dieta	3.ª semana	5.ª semana
Yeros	2.379 ± 394	4.819 ± 659
Estándar	3.774,5 ± 161	3.265 ± 256
P	< 0,001	< 0,001

trar una actividad un 23 % superior, frente al grupo alimentado con la dieta estándar.

Solamente aparece una referencia (11) en la que disminuye la actividad amilásica del páncreas de pollitos alimentados con soja cruda; el resto de experimentos encontrados en la bibliografía (25, 26) muestran una actividad superior. Por lo que los resultados son coincidentes con los obtenidos con yeros en este trabajo.

Resumen

Pollitos hasta las cinco semanas de edad han sido alimentados con una dieta conteniendo un 30 % de yeros. Los animales experimentaron una reducción del crecimiento del orden del 80 % y manifestaron un nivel muy superior de excitabilidad en relación con el grupo testigo.

Los animales fueron sacrificados al término de la segunda, tercera, cuarta y quinta semana de edad. En cada una de las pruebas se recogieron, después de pesadas y medidas la vesícula biliar y el páncreas. La vesícula biliar presentó un aumento de tamaño de un 20 % a las cuatro semanas de vida. La relación peso páncreas/peso corporal es significativamente más elevada en una proporción que alcance un máximo del 34 % a las cuatro semanas. En el análisis de contenido en D.N.A. del tejido pancreático, no se han presentado diferencias significativas entre los animales que consumieron la dieta yeros y los testigos. Se ha analizado la actividad enzimática del pán-

creas. La actividad proteolítica varía significativamente, siendo un 22 % más alta en el grupo de yeros a la tercera semana y un 30 % en la cuarta. La actividad amilásica presenta diferencias estadísticamente significativas, siendo un 23 % superior a las cinco semanas.

Bibliografía

1. ALMAZÁN, F. J.: Tesis doctoral. Facultad Veterinaria. Zaragoza, 1972.
2. ALUMOT, E. y NITSAN, A.: *J. Nutr.*, 73, 71-77, 1961.
3. ANSON, M. L.: *J. Gen. Physiol.*, 22, 79-89, 1938.
4. APPEGARTH, A. FURUTA, F. y LEPKOVSKY: *Poultry Sci.*, 43, 733-739, 1964.
5. BERGMAYER: En «Methods of Enzymatic Analysis». Academic Press, Nueva York, 1964.
6. BIELORAI, R. y BONDI, A.: *J. Sci. Food Agr.*, 14, 124-132, 1963.
7. BURTON, K.: *Biochemistry*, 62, 315-323, 1956.
8. CHERNICK, S. S., LEPKOVSKY, S. y CHAIKOFF, I. L.: *Am. J. Physiol.*, 155, 33-41, 1948.
9. FERRANDO, I.: Tesis doctoral. Facultad de Veterinaria. Zaragoza, 1976.
10. GARLICH, J. B. y NESHEIM, M. C.: *J. Nutr.*, 88, 100-110, 1966.
11. GERTLER, A. y NITSAN, Z.: *Br. J. Nutr.*, 24, 893-904, 1970.
12. KAKADE, M. L., BARTON, T. L., SCHAIBLE, P. J. y EVANS, R.: *Poultry Sci.*, 46, 1578-1580, 1967.
13. KONIJN, A. M. y GUGGENHEIM, K.: *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, 166, 65-67, 1967.
14. LAS HERAS, B.: Tesis doctoral. Facultad de Farmacia. Pamplona, 1977.
15. LIENER, J. E. y KAKADE, M. L.: En «Toxic Constituents of Plant Foodstuffs». Academic Press, Nueva York, 1969.
16. NIES, E., IVY, C. A. y NESHEIM, M. C.: *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, 140, 291-296, 1972.

17. NITSAN, Z. y ALUMOT, E.: *J. Nutr.*, **84**, 179-185, 1964.
18. NITSAN, Z., DROR, Y., NIR, I. y SHAPIRA, N.: *Br. J. Nutr.*, **32**, 241-247, 1974.
19. NOELTING, G. y BERNFELD, P.: *Helv. Chim. Acta.*, **31**, 286-290, 1948.
20. OSBORNE, T. B. y MENDEL, L. B.: *J. Biol. Chem.*, **32**, 369-387, 1917.
21. PALACIOS, J.: Tesis doctoral. Facultad de Veterinaria. León, 1976.
22. PATTEN, J. R., PATTEN, J. A. y POPE, H.: *Food and Cosmetics Toxicology*, **11**, 577-583, 1973.
23. RACKIS, J. J.: *Fed. Proc.*, **24**, 1488-1493, 1965.
24. SALMAN, A. J., DELBORGO, G., PUBOLS, M. H. y MCGINNIS, J.: *Proc. Soc. expl. Biol. Med.*, **126**, 694-698, 1967.
25. SAXENA, P. D., JENSEN, L. S. MCGINNIS, J. y LAUBER: *Proc. Soc. exp. Biol. N.Y.*, **112**, 390-393, 1963.