

(19)



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS
ESPAÑA



(11) Número de publicación: **2 748 136**

(51) Int. Cl.:

A23L 33/12 (2006.01)
A23L 33/115 (2006.01)
A23K 40/30 (2006.01)
A23K 20/158 (2006.01)
A23K 50/30 (2006.01)
A61K 36/02 (2006.01)
A61K 31/202 (2006.01)
A23K 50/75 (2006.01)

(12)

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

(86) Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **15.10.2008 PCT/US2008/079995**

(87) Fecha y número de publicación internacional: **23.04.2009 WO09052182**

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **15.10.2008 E 08840208 (6)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **01.05.2019 EP 2214481**

(54) Título: **Método para aumentar el rendimiento de las crías**

(30) Prioridad:

15.10.2007 US 980143 P

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

13.03.2020

(73) Titular/es:

**UNITED ANIMAL HEALTH, INC. (100.0%)
P.O. Box 108, 4310 State Road 38 West
Sheridan, IN 46069, US**

(72) Inventor/es:

SPENCER, JOEL DEAN

(74) Agente/Representante:

MILTENYI , Peter

ES 2 748 136 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Método para aumentar el rendimiento de las crías

5 **Campo de la invención**

La invención se refiere a métodos para aumentar el transporte intestinal de nutrientes en las crías de un animal, y composiciones de los mismos. La invención se refiere a métodos para aumentar el rendimiento de crecimiento de las crías de un animal, y composiciones de los mismos.

10 **Antecedentes y sumario**

Los ácidos grasos omega-3 y omega-6 y sus metabolitos regulan numerosas actividades *in vivo*, incluyendo la inflamación, resistencia a la enfermedad, función de plaquetas y contracciones de la pared vascular. Además, se ha informado que el suplemento de ácidos grasos omega-3 y/o el ácido gamma linolénico presentes en la dieta de animales y seres humanos tiene efectos favorables sobre la enfermedad cardíaca, trastornos inflamatorios y autoinmunitarios, diabetes, enfermedad renal, cáncer, e inmunidad, así como el aprendizaje, agudeza visual y función neurológica.

20 A nivel celular, los ácidos grasos omega-3 de cadena larga se incorporan fácilmente en la fracción fosfolipídica de las membranas celulares donde tienen influencia sobre la permeabilidad/fluidez de la membrana y el transporte. Esto representa una forma de almacenamiento de estos ácidos grasos, donde se mantienen hasta que actúan mediante las enzimas fosfolipasas que los liberan para la conversión adicional en eicosanoïdes.

25 Los ácidos linoleico y alfa linolénico son ácidos grasos que contienen C18 que son compuestos parentales de las familias de ácido grasos omega-6 y omega-3, respectivamente. Los ácidos grasos omega-3 y omega-6 se someten a insaturación (es decir, adición de dobles enlaces) y alargamiento secuencial desde el extremo carboxilo (es decir, añadiendo 2 unidades de carbono) con la enzima D6-desaturasa siendo la tasa de enzima limitante en el metabolismo de estos ácidos grasos de cadena larga. Las mismas enzimas se utilizan para estas familias, haciendo que las familias sean antagónicas unas de otras. Dicho antagonismo, que resultan de las necesidades de las mismas enzimas, se extiende en el metabolismo adicional de los miembros que contienen C20 de estas familias en los llamados eicosanoïdes.

35 Los ácidos grasos poliinsaturados, incluyendo los ácidos grasos omega-3 y omega-6, se diferencian de otros ácidos grasos en que no se pueden sintetizar en el cuerpo a partir de ácidos grasos saturados o monoinsaturados, sino que se deben obtener de la dieta. El ácido graso omega-6, ácido linoleico, se encuentra en grandes cantidades en los aceites vegetales tales como de maíz, semilla de algodón, soja, cártamo y aceite de girasol. El ácido graso omega-3, ácido alfa-linolénico, se encuentra en grandes cantidades en el aceite de linaza, aceite de semilla de lino, aceite de perilla y aceite de canola. Otro compuesto importante incluye el ácido araquidónico, que se encuentra en la grasa animal; el ácido gamma linolénico, que se encuentra en el aceite de onagra, aceite de borraja, y aceite de grosella negra; y ácido eicosapentaenoico, ácido docosahexaenoico, y ácido docosapentaenoico derivado de aceites de pescado y algas. Estos ácidos grasos de cadena larga se pueden formar en el cuerpo mediante el alargamiento y desaturación de los ácidos linoleico y alfa-linolénico parentales si los compuestos parentales se suministran en la dieta.

45 Los documentos WO 2004/095940 A1, WO 03/017945 A2, WO 2004/080196 A2 y US 2006/0217385 A1 desvelan las fuentes de PUFA (PolyUnsaturated Fatty Acids) de algas y composiciones nutricionales que comprenden dichas fuentes.

50 Los solicitantes han descubierto que la suplementación de la dieta de los animales con ácidos grasos poliinsaturados, incluyendo ácidos grasos omega-3, derivados de fuentes de algas y fuentes no algas que tienen alto contenido en ácido docosahexaenoico, da como resultado efectos positivos para las crías del animal cuando la madre se alimenta con estas composiciones que contienen ácidos grasos. De manera interesante, estas composiciones producen efectos positivos para las crías incluyendo el aumento de transporte intestinal y un aumento del rendimiento de crecimiento, incluyendo un aumento de la tasa de crecimiento, una disminución de pienso para la ganancia de peso y un aumento en la eficacia de utilización del pienso.

55 Los métodos y composiciones para aumentar el transporte intestinal de nutrientes en una cría de un animal se describen en el presente documento.

60 Específicamente, la presente invención proporciona las siguientes realizaciones definidas en las reivindicaciones adjuntas.

65 Se desvela en el presente documento un método de aumento del transporte intestinal de nutrientes en las crías de un animal al que se le proporciona. El método comprende las etapas de administración al animal de un composición de un pienso que comprende una composición de algas que comprende ácidos grasos omega-3 o ésteres de los

5 mismos, donde la composición de pienso como mezcla final comprende aproximadamente de un 0,01 % a aproximadamente un 60 % por peso de la composición de algas y donde el animal es una cerda gestante, una cerda postparto, otra especie de animal de producción, un animal de compañía, o un ser humano, y el aumento del transporte intestinal en las crías del animal.

10 La composición de algas puede estar en forma de algas secas o un aceite derivado de las algas y los ácidos grasos omega-3 pueden comprender ácidos grasos omega-3 C22 o C20. La composición de pienso como mezcla final puede comprender de aproximadamente 0,01 % a aproximadamente 3,0 % por peso, de aproximadamente 0,01 % a aproximadamente 4,0 % por peso, de aproximadamente 0,01 % a aproximadamente 1,5 % por peso, de aproximadamente 0,01 % a aproximadamente 1,0 % por peso, de aproximadamente 0,01 % a aproximadamente 0,8 % por peso, de aproximadamente 0,01 % a aproximadamente 0,5 % por peso, de aproximadamente 0,01 % a aproximadamente 0,3 % por peso, de aproximadamente 0,1 % a aproximadamente 0,5 % por peso, de aproximadamente 0,01 % a aproximadamente 18 % por peso, de aproximadamente 0,01 % a aproximadamente 20 % por peso, de aproximadamente 0,01 % a aproximadamente 30 % por peso, de aproximadamente 0,01 % a aproximadamente 40 % por peso, de aproximadamente 0,01 % a aproximadamente 50 % por peso, o de aproximadamente 0,01 % a aproximadamente 60 % por peso de la composición de algas.

15 La composición de pienso como mezcla final puede comprender adicionalmente ácidos grasos omega-6 o ésteres de los mismos, la composición de pienso se puede administrar durante la lactancia, gestación, o diariamente al animal, la composición de pienso como mezcla final puede comprender adicionalmente un antioxidante, los ácidos grasos omega-3 en la composición de pienso pueden estar estabilizados por encapsulación, los ácidos grasos omega-3 pueden comprender ácido docosahexaenoico y ácido eicosapentaenoico, y los ácidos grasos omega-3 pueden comprender ácido docosahexaenoico, ácido eicosapentaenoico y ácido docosapentaenoico. Adicionalmente de acuerdo con esta realización, la relación de ácido docosahexaenoico con respecto al ácido eicosapentaenoico puede ser de aproximadamente 60:1, aproximadamente 30:1, aproximadamente 28:1, aproximadamente 25:1, aproximadamente 20:1, aproximadamente 15:1, aproximadamente 10:1, aproximadamente 5:1, o aproximadamente 2:1. Las especies de animales de producción se pueden seleccionar de entre el grupo que consiste en pollos, caballos, ponys, vacas, pavos, faisanes, codornices, animales ovinos, cabras, avestruces y patos, y el animal de compañía se puede seleccionar de entre el grupo que consiste en una especie canina y una especie felina.

20 30 Se desvela en el presente documento un método de aumento del transporte intestinal de nutrientes en un lechón. El método comprende las etapas de administración al lechón una composición de pienso que comprende una composición de algas que comprende ácidos grasos omega-3 o ésteres de los mismos, donde la composición de algas comprende ácido docosahexaenoico y ácido eicosapentaenoico y la relación del ácido docosahexaenoico respecto al ácido eicosapentaenoico en la composición de algas es de aproximadamente 30:1 a aproximadamente 1:1, y aumenta el transporte intestinal en el lechón.

25 40 La composición de algas puede estar en forma de algas secas o un aceite derivado de las algas y los ácidos grasos omega-3 pueden comprender ácidos grasos omega-3 C22 o C20. También de acuerdo con esta realización, la composición de pienso como mezcla final puede comprender de aproximadamente 0,01 % a aproximadamente 3,0 % por peso, de aproximadamente 0,01 % a aproximadamente 4,0 % por peso, de aproximadamente 0,01 % a aproximadamente 1,5 % por peso, de aproximadamente 0,01 % a aproximadamente 1,0 % por peso, de aproximadamente 0,01 % a aproximadamente 0,8 % por peso, de aproximadamente 0,01 % a aproximadamente 0,5 % por peso, de aproximadamente 0,01 % a aproximadamente 0,3 % por peso, de aproximadamente 0,01 % a aproximadamente 0,1 % a aproximadamente 0,5 % por peso, de aproximadamente 0,01 % a aproximadamente 0,01 % a aproximadamente 18 % por peso, de aproximadamente 0,01 % a aproximadamente 20 % por peso, de aproximadamente 0,01 % a aproximadamente 30 % por peso, de aproximadamente 0,01 % a aproximadamente 40 % por peso, de aproximadamente 0,01 % a aproximadamente 50 % por peso, o de aproximadamente 0,01 % a aproximadamente 60 % por peso de la composición de algas.

45 50 La composición de pienso como mezcla final puede comprender adicionalmente ácidos grasos omega-6 o ésteres de los mismos, la composición de pienso se puede administrar durante la lactancia, gestación, o diariamente al animal, la composición de pienso como mezcla final puede comprender adicionalmente un antioxidante, los ácidos grasos omega-3 en la composición de pienso pueden estar estabilizados por encapsulación, los ácidos grasos omega-3 pueden comprender adicionalmente el ácido docosapentaenoico. Adicionalmente, la relación de ácido docosahexaenoico respecto a ácido eicosapentaenoico puede ser de aproximadamente 30:1, aproximadamente 28:1, aproximadamente 25:1, aproximadamente 20:1, aproximadamente 15:1, aproximadamente 10:1, aproximadamente 5:1, o aproximadamente 1:1.

55 60 65 Se desvela adicionalmente en el presente documento un método de aumento del transporte intestinal de nutrientes en las crías de un animal. El método comprende las etapas de administración al animal de un composición de un pienso que comprende una composición no de algas que comprende ácidos grasos omega-3 o ésteres de los mismos, donde la relación de ácido docosahexaenoico respecto al ácido eicosapentaenoico es aproximadamente de 30:1 a aproximadamente 1:1 y donde el animal es una cerda gestante, una cerda postparto, otra especie de animal de producción, un animal de compañía, o un ser humano, y el aumento del transporte intestinal en las crías del animal.

- Los ácidos grasos omega-3 pueden comprender ácidos grasos omega-3 C22 o C20. La composición de pienso como mezcla final puede comprender de aproximadamente 0,01 % a aproximadamente 3,0 % por peso, de aproximadamente 0,01 % a aproximadamente 4,0 % por peso, de aproximadamente 0,01 % a aproximadamente 1,5 % por peso, de aproximadamente 0,01 % a aproximadamente 1,0 % por peso, de aproximadamente 0,01 % a aproximadamente 0,8 % por peso, de aproximadamente 0,01 % a aproximadamente 0,5 % por peso, de aproximadamente 0,01 % a aproximadamente 0,3 % por peso, de aproximadamente 0,1 % a aproximadamente 0,5 % por peso, de aproximadamente 0,01 % a aproximadamente 18 % por peso, de aproximadamente 0,01 % a aproximadamente 20 % por peso, de aproximadamente 0,01 % a aproximadamente 30 % por peso, de aproximadamente 0,01 % a aproximadamente 40 % por peso, de aproximadamente 0,01 % a aproximadamente 50 % por peso, o de aproximadamente 0,01 % a aproximadamente 70 % por peso de la composición de algas.
- La composición de pienso como mezcla final puede comprender adicionalmente ácidos grasos omega-6 o ésteres de los mismos, la composición de pienso se puede administrar durante la lactancia, gestación, o diariamente al animal, la composición de pienso como mezcla final puede comprender adicionalmente un antioxidante, los ácidos grasos omega-3 en la composición de pienso pueden estar estabilizados por encapsulación, los ácidos grasos omega-3 pueden comprender adicionalmente el ácido docosapentaenoico. Adicionalmente, la relación de ácido docosahexaenoico con respecto al ácido eicosapentaenoico puede ser de aproximadamente 25:1, aproximadamente 20:1, aproximadamente 15:1, aproximadamente 10:1, aproximadamente 5:1, o aproximadamente 2:1. Las especies de animales de producción se pueden seleccionar de entre el grupo que consiste en pollos, caballos, ponys, vacas, pavos, faisanes, codornices, animales ovinos, cabras, avestruces y patos, y el animal de compañía se puede seleccionar de entre el grupo que consiste en una especie canina y una especie felina.
- Se desvela adicionalmente en el presente documento un método de aumento del rendimiento de crecimiento de las crías de un animal. El método comprende las etapas de administración al animal de una composición de un pienso que comprende una composición de algas que comprende ácidos grasos omega-3 o ésteres de los mismos, donde la composición de algas comprende ácido docosahexaenoico y ácido eicosapentaenoico y la relación de ácido docosahexaenoico con respecto al ácido eicosapentaenoico es de aproximadamente 60:1 a aproximadamente 1:1 y donde el animal es una cerda gestante, una cerda postparto, otra especie de animal de producción, un animal de compañía, o un ser humano, y el aumento del rendimiento de crecimiento de las crías del animal. El rendimiento de crecimiento se selecciona de entre el grupo que consiste en un aumento de la tasa de crecimiento de las crías, una disminución de la relación de pienso respecto a ganancia de peso de las crías, y un aumento de la eficacia de utilización del pienso.
- Se desvela adicionalmente en el presente documento un método de aumento del rendimiento de crecimiento de las crías de un animal. El método comprende las etapas de administración al animal de un composición de un pienso que comprende una composición de algas que comprende ácidos grasos omega-3 o ésteres de los mismos, donde la composición de pienso como mezcla final comprende aproximadamente de un 0,01 % a aproximadamente un 60 % por peso de la composición de algas y donde el animal es una cerda gestante, una cerda postparto, otra especie de animal de producción, un animal de compañía, o un ser humano, y el aumento del rendimiento de crecimiento de las crías del animal. En un aspecto, el rendimiento de crecimiento se selecciona de entre el grupo que consiste en un aumento de la tasa de crecimiento de las crías y una disminución de la relación de pienso respecto a ganancia de peso de las crías.
- Se desvela adicionalmente en el presente documento un aumento del rendimiento de crecimiento de las crías de un animal. El método comprende las etapas de administración al animal de un composición de un pienso que comprende una composición no de algas que comprende ácidos grasos omega-3 o ésteres de los mismos, donde la relación del ácido docosahexaenoico respecto al ácido eicosapentaenoico en la composición no de algas es de aproximadamente 30:1 a aproximadamente 1:1 y donde el animal es una especie de animal de producción distinta de un cerdo, un animal de compañía, o un ser humano, y el aumento del rendimiento de crecimiento de las crías del animal; donde el rendimiento de crecimiento se puede seleccionar de entre el grupo que consiste en un aumento de la tasa de crecimiento de las crías y una disminución de la relación de pienso con respecto a la ganancia de peso de las crías.
- Se desvela adicionalmente en el presente documento un método de aumento del rendimiento de crecimiento de las crías de un animal. El método comprende las etapas de administración al animal de un composición de un pienso que comprende una composición no de algas que comprende ácidos grasos omega-3 o ésteres de los mismos, donde la composición del pienso como mezcla final puede comprender desde aproximadamente un 0,01 % a aproximadamente un 90 % por peso de la composición no de algas, donde el animal es una especie de animal de producción, un animal de compañía, o un ser humano, y el aumento del rendimiento de crecimiento de las crías del animal, donde el rendimiento de crecimiento se puede seleccionar de entre el grupo que consiste en un aumento de la tasa de crecimiento de las crías y una disminución de la relación del pienso con respecto a la ganancia de peso de las crías.
- Se desvela adicionalmente en el presente documento un método de aumento del transporte intestinal en las crías de un cerdo. El método comprende las etapas de administración al cerdo de una composición de pienso que

comprende una composición no de algas que comprende ácidos grasos omega-3 o esteres de los mismos, donde la relación del ácido docosahexaenoico respecto al ácido eicosapentaenoico en la composición no de algas es de aproximadamente 30:1 a aproximadamente 2:1.

- 5 Se desvela adicionalmente en el presente documento un método de aumento del rendimiento de crecimiento de las crías de cerdo. El método comprende las etapas de administración al cerdo de una composición de pienso que comprende una composición no de algas que comprende ácidos grasos omega-3 o esteres de los mismos, donde la relación del ácido docosahexaenoico respecto al ácido eicosapentaenoico en la composición no de algas es de 10 aproximadamente 30:1 a aproximadamente 2:1.

10 Breve descripción de los dibujos

La Fig. 1 muestra el transporte activo de glucosa (panel A) y glutamina (panel B) en muestras de yeyuno obtenidas de lechones destetados a los 14-17 días de edad de cerdas alimentadas con una de cuatro dietas: (1) una dieta básica de control con harina de maíz/soja (sin grasa añadida, CONT); (2) la dieta básica suplementada con aceite de pescado protegido (PFO); (3) la dieta básica suplementada con grasas DHA de algas *Schizochytrium* (alDHA); o (4) la dieta básica suplementada con grasa seca de coco (COCO). Los lechones (n = 4 por tratamiento) se privaron de pienso durante 24 horas tras el destete. Las medias sin una letra común difieren, $P < 0,05$. Se muestran los SEM agrupados.

20 La Fig. 2 muestra la expresión de proteína GLUT2 en muestras de yeyuno obtenidas de lechones destetados a los 14-17 días de edad. Los lechones eran de cerdas alimentadas con: (1) una dieta básica de control con harina de maíz/soja (sin grasa añadida, CONT); (2) la dieta básica suplementada con aceite de pescado protegido (PFO); (3) la dieta básica suplementada con grasas DHA de algas *Schizochytrium* (alDHA); o (4) la dieta básica suplementada con grasa seca de coco (COCO). Los lechones (n = 4 por tratamiento) se privaron de pienso durante 24 horas tras el destete y se muestran los SEM agrupados.

30 La Fig. 3 muestra la expresión de proteína SGLT1 en muestras de yeyuno obtenidas de lechones destetados a los 14-17 días de edad. Las cerdas se alimentaron con: (1) una dieta básica de control con harina de maíz/soja (sin grasa añadida, CONT); (2) la dieta básica suplementada con aceite de pescado protegido (PFO); (3) la dieta básica suplementada con grasas DHA de algas *Schizochytrium* (alDHA); o (4) la dieta básica suplementada con grasa seca de coco (COCO). Los lechones (n = 4 por tratamiento) se privaron de pienso durante 24 horas tras el destete. Las medias sin una letra común difieren, $P < 0,05$. Se muestran los SEM agrupados.

35 La Fig. 4 muestra las concentraciones de glucosa, glicógeno, y glicosilo total en muestras del músculo longissimus (panel A) y el hígado (panel B) obtenidas de lechones destetados a los 14-17 días de edad. Los lechones eran de cerdas alimentadas con: (1) una dieta básica de control con harina de maíz/soja (sin grasa añadida, CONT); (2) la dieta básica suplementada con aceite de pescado protegido (PFO); (3) la dieta básica suplementada con grasas DHA de algas *Schizochytrium* (alDHA); o (4) la dieta básica suplementada con grasa seca de coco (COCO). Los lechones (n = 4 por tratamiento) se privaron de pienso durante 24 horas tras el destete. Las diferentes letras representan diferencias significativas ($P < 0,05$). Se muestran los SEM agrupados.

40 La Fig. 5 muestra la captación activa de glucosa ex vivo por el yeyuno proximal de lechones a los 21 días de edad después de la privación de pienso durante 24 horas para simular el estrés del destete. Las madres se alimentaron con regímenes de dieta de control (Cont) y aceite de pescado protegido (PFO) durante la gestación y la lactancia (G/L). Los datos representan las medias de 6 lechones por tratamiento. Las medias sin una letra común son significativamente diferentes ($P < 0,05$).

45 La Fig. 6 muestra la cantidad de proteína GLUT2 en las membranas de borde en cepillo (Brush Border Membranes, BBM) en bruto (panel A) y las preparaciones tisulares totales (panel B) del yeyuno proximal de lechones de 21 días de edad después de la privación de pienso durante 24 horas para simular el estrés del destete. Las madres se alimentaron con regímenes de dieta de control (Cont) y aceite de pescado protegido (PFO) durante la gestación y la lactancia (G/L). Los datos representan las medias \pm SD de 6 lechones por tratamiento. Las medias sin una letra común son significativamente diferentes ($P < 0,05$).

50 La Fig. 7 muestra la cantidad de proteína SGLT1 en las membranas de borde en cepillo en bruto (BBM) (panel A) y las preparaciones tisulares totales (panel B) del yeyuno proximal de lechones de 21 días de edad después de la privación de pienso durante 24 horas para simular el estrés del destete. Las madres se alimentaron con regímenes de dieta de control (Cont) y aceite de pescado protegido (PFO) durante la gestación y(o) la lactancia (G/L). Los datos representan las medias \pm SD de 6 lechones por tratamiento. Las medias sin una letra común son significativamente diferentes ($P < 0,05$), y las Cont/Cont y Cont/PFO se diferenciaban con una $P < 0,10$.

55 La Fig. 8 muestra la captación de glucosa en el yeyuno de pollos. Los valores son las medias \pm SEM de los cuadrados mínimos (n = 10/tratamiento). Las diferentes letras representan diferencias significativas con una $P < 0,05$.

60 La Fig. 9 muestra la captación de glutamina en el yeyuno de pollos. Los valores son las medias \pm SEM de los

cuadrados mínimos (n = 10/tratamiento).

Descripción detallada de la invención

5 Se describirán en detalle las realizaciones específicas en el presente documento.

Se describen métodos y composiciones para aumentar el transporte intestinal de nutrientes en las crías de un animal. Más particularmente, se describen métodos y composiciones para la administración a un animal de una composición de pienso suplementada con una composición que comprende ácidos grasos omega-3 o ésteres de los mismos, para aumentar el transporte intestinal de nutrientes en las crías del animal. Por ejemplo, los métodos y composiciones descritas en el presente documento pueden aumentar el transporte intestinal de nutrientes incluyendo, pero sin limitarse a, vitaminas, lípidos, minerales, aminoácidos (por ejemplo, glutamina, etc.), carbohidratos (por ejemplo, glucosa, etc.), proteínas y similares. Adicionalmente, los métodos y composiciones descritas son útiles para aumentar los depósitos de energía tisulares (por ejemplo, las unidades de glucógeno muscular o las unidades de glicosilo muscular).

10 Las composiciones descritas en el presente documento contienen, en particular, una fuente de ácidos grasos omega-3 o ésteres de los mismos, tales como productos de fuentes de algas (por ejemplo, aceites de alga, productos de algas secas, y restos y derivados de las mismas), fuentes no de algas (por ejemplo, aceites, productos secados y derivado de fuentes marinas no algas, así como frutos secos, semillas y productos vegetales), o combinaciones de los mismos. Los productos de algas y no de algas sirven como una fuente de ácidos grasos omega-3/ésteres y sus metabolitos, tales como el ácido eicosapentaenoico (EPA), ácido docosahexaenoico (DHA), y ácido docosapentaenoico (DPA), o mezclas de los mismos.

15 20 25 30 35 Se puede utilizar cualquier fuente de ácidos grasos omega-3 en los métodos y composiciones descritos en el presente documento. En una realización, las fuentes de ácido graso omega-3 útiles en los métodos y composiciones descritas en el presente documento comprenden ácidos grasos omega-3 C₂₂ y/o ácidos grasos omega-3 C₂₀. En otra realización las composiciones para su uso como una fuente de ácidos grasos omega-3 en la composición de pienso como una mezcla final tendrá una relación de DHA:EPA > 1:1. En otra realización ilustrativa más, la composición de pienso como mezcla final como se describe en el presente documento comprende DHA y EPA en una relación DHA:EPA de aproximadamente 1: 1 a aproximadamente 60:1. En otra realización ilustrativa, las composiciones de pienso finales como se describen en el presente documento comprenden DHA y EPA en una relación de desde aproximadamente 8:1 a aproximadamente 30:1, o aproximadamente 30:1, aproximadamente 28:1, aproximadamente 25:1, aproximadamente 20:1, aproximadamente 15:1, aproximadamente 10:1, aproximadamente 5:1, o aproximadamente 2:1.

40 45 Los ácidos grasos sin dobles enlaces se denominan ácidos grasos saturados, los que tienen un doble enlace se denominan ácidos grasos monoinsaturados, y los que tienen múltiples enlaces dobles se denominan ácidos grasos poliinsaturados. La digestibilidad total parece que aumenta con el grado de insaturación. Se utiliza un sistema de atajo conveniente en la presente memoria descriptiva para mencionar la estructura de los ácidos grasos. El sistema utiliza un número que denota el número de carbonos de la cadena de hidrocarbonos, seguido por un guion y un número que indica el número de dobles enlaces en la molécula, y entonces "w6" o "w3" para denotar "omega-6" u "omega-3", respectivamente (por ejemplo, 22:5w6). La "w6" o "w3" denota la localización del primer doble enlace desde el extremo metilo de la molécula del ácido graso. Los nombres habituales en la serie de ácidos grasos w6 incluyen el ácido linoleico (18:2w6), ácido gamma-linoleico (18:3w6) y el ácido araquidónico (20:4w6). El único ácido graso en la serie w3 con un nombre común es el ácido alfa-linolénico (18:3w3). Para los fines de la presente solicitud un ácido graso con la nomenclatura 20:5w3 es el ácido eicosapentaenoico, con la nomenclatura 22.6w3 es el ácido docosahexaenoico, y con la nomenclatura 22.5w3 es el ácido docosapentaenoico.

50 55 60 Los métodos desvelados en el presente documento utilizan una composición que contiene un ácido graso omega-3 como fuente de ácidos grasos omega-3 de cadena larga, tales como el ácido eicosapentaenoico, ácido docosahexaenoico, ácido docosapentaenoico, y ésteres de los mismos, para aumentar el transporte intestinal de nutrientes en las crías de un animal. La composición que contiene un ácido graso omega-3 que se utiliza en el presente documento se puede obtener a partir de una fuente de algas o una fuente no de algas. La composición de pienso se puede suplementar con una composición que contiene ácidos grasos omega-3 que comprende DHA y EPA, donde la relación DHA:EPA en la composición de pienso como mezcla final es aproximadamente de 1:1 a aproximadamente 30:1. En un aspecto, esta composición de pienso puede darse como alimento a los lechones. La relación DHA:EPA en la composición de pienso final es aproximadamente de 30:1 a aproximadamente 2:1. La composición de pienso puede contener una fuente de no algas de ácidos grasos omega-3. La relación DHA:EPA en la composición de pienso final es aproximadamente de 28:1 a aproximadamente 25:1, aproximadamente 20:1, aproximadamente 15:1, aproximadamente 10:1, aproximadamente 5:1 o aproximadamente 2:1.

65 Se puede administrar una cantidad biológicamente activa de la composición que contiene ácidos grasos omega-3 para aumentar el transporte intestinal de nutrientes en las crías de animales. Por "cantidad biológicamente eficaz" quiere decirse una cantidad de la composición que contiene un ácido graso omega-3 capaz de aumentar el transporte intestinal de nutrientes en las crías de un animal por cualquier mecanismo, incluyendo los descritos en el

presente documento. Adicionalmente, una cantidad biológicamente eficaz de la composición que contiene ácidos grasos omega-3 puede ser una cantidad capaz de aumentar los depósitos de energía tisular, y/o una cantidad eficaz para aumentar el rendimiento de crecimiento (por ejemplo, aumentando la tasa de crecimiento, reduciendo la relación de pienso respecto a ganancia de peso, aumentando el peso al destete, o aumentando la eficiencia de la utilización del pienso).

Por ejemplo, las composiciones de pienso que contienen ácidos grasos omega-3 se administran a los animales por vía oral, pero se pueden utilizar otros métodos de administración eficaces conocidos por los expertos en la técnica.

Por ejemplo, la composición de pienso como una mezcla final puede comprender una composición derivada de algas o una composición derivada no de algas, tales como un producto marino no de algas (por ejemplo, aceite de pescado o harina de pescado), o un producto derivado de frutos secos, semillas o de plantas (por ejemplo, frutos secos, linaza, canola, aceite de soja, o aceite de maíz, o un derivado de los mismos), o combinaciones de los mismos. Por ejemplo, la composición de pienso como una mezcla final puede suplementarse con cualquier composición que contiene ácidos grasos omega-3, y puede incluir, por ejemplo, un aceite de alga, un producto de alga desecado (incluyendo células secas completas y productos de lecho de algas), un aceite de pescado (por ejemplo, aceite de salmón u otro aceite de pescado de un pez de agua fría del Atlántico Norte), harina de pescado, o un aceite derivado de harina de pescado, o una mezcla de los mismos, o restos de cualquiera de estas fuentes de ácidos grasos omega-3 para proporcionar una fuente de ácidos grasos omega-3/ésteres en una mezcla con una mezcla de pienso para animales reconocida en la técnica.

Por ejemplo, la composición de pienso como una mezcla final puede administrarse al animal durante cualquier periodo de tiempo que sea eficaz para aumentar el transporte intestinal de nutrientes en las crías del animal. Por ejemplo, la composición de pienso se puede dar como alimento a un animal hembra diariamente durante toda la vida del animal. De manera alternativa, la composición de pienso se puede administrar al animal durante un periodo de tiempo más corto. La composición de pienso se puede administrar a una cerda gestante, una cerda postparto, un lechón, otras especies de animales de producción, un animal de compañía, o un ser humano (por ejemplo, para aumentar la longevidad del ser humano o el animal). De manera ilustrativa, el animal de compañía, el ser humano, o la especie de animal de producción puede ser un animal gestante, lactante o en postparto.

La composición de pienso se puede administrar a un animal postnatal, incluyendo un animal lactante o un animal que se va a destetar o un animal después del destete. La composición de pienso puede administrarse a un animal prenatal *in utero* alimentando con la composición a una madre gestante. La composición de pienso se puede administrar a un animal lactante alimentando con la composición a la madre lactante, o de manera alternativa, alimentando con la composición directamente al animal lactante a través de una dieta preparada (por ejemplo, una fórmula). Los periodos de tiempo para la administración de la composición en pienso que se ha descrito anteriormente no son limitantes y debería apreciarse que se puede utilizar cualquier periodo de tiempo que se determine que sea eficaz para aumentar el transporte intestinal de nutrientes en las crías del animal.

Una especie de animal de producción distinto del cerdo puede alimentarse con la composición de pienso y las especies pueden incluir especies bovinas (por ejemplo, ganado bovino y bisonte), especies equinas (por ejemplo, caballos, ponys, y burros), especies ovinas (por ejemplo, ovejas), especies caprinas (por ejemplo, cabras), conejos y aves de corral (por ejemplo, pollos, pavos, faisanes, patos, avestruces, emúes, codornices y gansos). Como se utiliza en el presente documento, una especie de un animal de producción distinta de un cerdo puede incluir cualquier animal que es cría para un uso personal (por ejemplo, para proporcionar comida, combustible, etc.) o un beneficio. Un animal de compañía se puede alimentar también con las composiciones descritas en el presente documento y un animal de compañía incluye cualquier animal que se mantiene o se cría con fines de acompañamiento, por ejemplo, especies caninas y felinas.

Cualquier mezcla de pienso para animales conocida en la técnica se puede utilizar para fabricar la composición de pienso tale como harina de canola, harina de linaza, harina de semillas de algodón, harina de soja, y harina de maíz. La mezcla de pienso para animales se puede suplementar con una composición que contenga ácidos grasos omega-3, pero se pueden añadir opcionalmente otros ingredientes a la mezcla de pienso para animales. Los ingredientes de la mezcla de pienso para animales incluyen azúcares y carbohidratos complejos tal como monosacáridos, disacáridos y polisacáridos hidrosolubles e insolubles en agua. Los ingredientes de aminoácidos opcionales que se pueden añadir a la mezcla de pienso son arginina, histidina, isoleucina, lisina, metionina, fenilalanina, treonina, triptófano, valina, etil HCl de tirosina, alanina, ácido aspártico, glutamato sódico, glicina, prolina, serina, etil HCl de cisteína, y análogos y sales de los mismos. Las vitaminas que se pueden añadir opcionalmente son HCl de tiamina, riboflavina, HCl de piridoxina, niacina, niacinamida, inositol, cloruro de colina, pantotenoato de calcio, biotina, ácido fólico, ácido ascórbico, y vitaminas A, B, K, D, E, y similares. También se podrían añadir mezclasopcionales de lípidos de origen animal o vegetal o ingredientes de fibra. También se pueden añadir ingredientes proteicos e incluyen proteínas obtenidas de harina de carne o harina de pescado, huevos líquidos o en polvo, solubles de pescado y similares. También se pueden añadir ingredientes medicamentosos conocidos en la técnica a la mezcla de pienso para animales tales como antibióticos.

Se pueden añadir antioxidantes a la composición de pienso para evitar la oxidación de ácidos grasos presentes en la composición que contiene ácidos grasos omega-3 utilizada para suplementar la composición de pienso, tal como los

ácidos grasos de cadena larga omega-3, ácido eicosapentaenoico, ácido docosahexaenoico, y ácido docosapentaenoico. La oxidación de los ácidos grasos se produce a lo largo del tiempo y pueden estar afectada por condiciones tales como la humedad y la presencia de catalizadores minerales y por características de los ácidos grasos como el número de enlaces dobles y el posicionamiento y la configuración de los enlaces. La oxidación de estos ácidos grasos omega-3 puede evitarse por la introducción de antioxidantes de origen natural, tal como betacaroteno, vitamina E, vitamina C, y tocoferol o de antioxidantes sintéticos tales como hidroxitolueno butilado, hidroxianisol butilado, butilhidroquinona terciaria, propil galato o etoxiquina a la composición de pienso. También se pueden añadir compuestos que actúan sinérgicamente con antioxidantes, tales como el ácido ascórbico, ácido cítrico, y ácido fosfórico. La cantidad de antioxidantes incorporados de esta manera depende de necesidades tales como la formulación del producto, condiciones de expedición (por ejemplo, expedición bajo una manta de nitrógeno), métodos de envasado y vida de almacenamiento deseada.

La composición que contiene ácidos grasos omega-3 que se utilizan para el suplemento de la composición de pienso se deriva de una preparación de algas de alta pureza que comprende un alto contenido de DHA. La preparación de algas puede comprender una relación alta de DHA:EPA, es decir, la cantidad de DHA en la composición puede ser mayor o igual que la cantidad de EPA en la composición (por ejemplo, hasta una relación de 60:1 de DHA:EPA). De manera alternativa, no existe EPA en la composición de algas. Se describen distintas relaciones en el presente documento. Por ejemplo, la composición de pienso como mezcla final puede suplementarse con una composición que contiene ácidos nucleicos omega-3 derivados de algas, tales como aceites, geles, pastas, productos secos y restos o derivados de los mismos. La composición que contiene ácidos grasos omega-3 puede incluir productos de algas completos, productos de lecho de algas, o productos residuales que permanecen de la producción de aceites, geles, pastas y productos secos, o derivados de los mismos. En aspectos ilustrativos, el producto de algas se puede obtener a partir de cualquier fuente de algas, incluyendo fuentes de algas marinas o de agua dulce.

Las fuentes de algas pueden incluir, pero no se limitan a, especies de *Schizochytrium*, *Spirulina*, *Chlorella*, *Chaetoceros*, *Cyclotella*, *Isochrysis*, *Nonnocholoropsis*, *Nitzschia*, *Phyaeodactylum*, así como dinoflagelados, incluyendo especies de *Amphidinium*, *Ceratium*, *Cochlodinium*, *Cryptocodinium* (por ejemplo, *Cryptocodinium cohnii*), *Gonyaulax*, y *Peridinium*. La composición que contiene ácidos grasos omega-3 derivada de algas puede incluir una composición derivada de organismos modificados genéticamente, modificados por la expresión de un gen de alga. Se puede utilizar cualquier fuente de alga no tóxica capaz de aumentar el transporte intestinal de nutrientes en un animal. Los productos de algas como se describen en el presente documento proporcionan una fuente de ácidos grasos omega-3 poliinsaturados de cadena larga incluyendo el ácido eicosapentaenoico (20:5w3), ácido docosahexaenoico (22:6w3), y ácido docosapentaenoico (22:5w3). Por ejemplo, la composición que contiene ácidos grasos omega-3 derivada de algas tiene una relación DHA:EPA > 1:1, > 5:1, >10:1, >15:1, >20:1, o >25:1.

La mezcla de pienso para animales se puede suplementar con una composición que contenga ácidos grasos omega-3 derivada de una fuente no de algas que contiene omega-3, tal como aceites de pescado o harina de pescado, así como aceites de frutos secos o semillas, o un derivado de los mismos, o una combinación de los mismos. La composición que contiene ácidos grasos omega-3 derivada de una fuente no de algas puede incluir composiciones derivadas de un organismo modificado genéticamente. Por ejemplo, se pueden utilizar plantas modificadas genéticamente, incluyendo plantas transgénicas, como una fuente no de algas de ácidos grasos omega-3. Además, se pueden utilizar plantas o semillas fortificadas nutricionalmente como una fuente no de algas de ácidos grasos omega-3. Ejemplos de plantas que pueden estar modificadas genéticamente o mejoradas nutricionalmente para su uso como una fuente no de algas incluyen, pero no se limitan a maíz, canola, soja, linaza, colza, y afecho.

Los aceites no de algas descritos en el presente documento pueden obtenerse de cualquier fuente. La fuente de aceite no de algas puede ser de peces de agua fría del Atlántico Norte. Los aceites de pescado proporcionan una fuente de ácidos grasos tanto omega-3 como omega-6, pero son particularmente una buena fuente de ácidos grasos omega-3 poliinsaturados. Los ácidos grasos omega-3 poliinsaturados de cadena larga ácido eicosapentaenoico (20:5w3), ácido docosahexaenoico (22:6w3), y ácido docosapentaenoico (22:5w3) son típicos de aceites de pescado y juntos comprenden aproximadamente un 25-38 % por peso del aceite de pescado. Los ácidos grasos omega-6 poliinsaturados presentes en los aceites de pescado incluyen el ácido linoleico y ácido araquidónico y están presentes en concentraciones menores de aproximadamente un 10 % por peso.

Se entiende que los aceites son lípidos o grasas incluyendo los ésteres glicéridos de ácidos grasos junto con fosfatídos asociados, esteroles, alcoholes, hidrocarbonos, cetonas, alquil ésteres, sales, y compuestos relacionados. Adicionalmente, como se ha descrito en el presente documento, los productos secos incluyen algas y productos no algas preparados por cualquier método conocido en la técnica, y puede incluir productos secados por pulverización o secados por congelación. Las composiciones de algas y no algas descritas en el presente documento pueden incluir productos celulares completos, productos molidos, o residuos o derivados de los mismos.

En distintos aspectos ilustrativos, los aceites o componentes de ésteres de ácidos grasos pueden añadirse en una forma sin procesar o en forma pura, o pueden estar conjugados o no conjugados, incluyendo los suplementos (por ejemplo, ácido linoleico conjugado). De manera ilustrativa, los ésteres de ácidos grasos añadidos a la composición de pienso pueden ser triglicéridos, diglicéridos, monoglicéridos, fosfolípidos, lisofosfolípidos, o pueden estar beneficiados químicamente o beneficiados enzimáticamente para aumentar el contenido de los ésteres de

ácido graso deseados.

Las composiciones de pienso descritas en el presente documento pueden comprender también ácidos grasos omega-6 o ésteres de los mismos, como se describe en la Patente de EE. UU. N.º 7.084.175 y la Solicitud de 5 patente de EE. UU. N.º 10/142.685. De manera ilustrativa, los ácidos grasos omega-6 que se pueden utilizar en la presente invención pueden ser ácidos grasos insaturados que tienen al menos dos dobles enlaces carbono-carbono tal como el ácido 2,4-decadienoico, ácido linolénico, ácido gamma linolénico, ácido 8,10,12-octadecatrienoico y ácido 10 araquidónico. De manera alternativa, el ácido graso omega-6 puede ser el ácido gamma-linolénico. Los ésteres/ácidos grasos omega-6 para su uso en la composición de pienso pueden incluir ésteres/ácidos grasos omega-6 derivados de una harina reconocida en la técnica tal como la harina de maíz, o harina de soja o de aceites tales como el aceite de maíz, aceite de semillas de algodón, aceite de soja, aceite de cártamo, aceite de girasol, aceite de linaza, aceite de borraja, aceite de grosella negra, aceite de onagra, y similares.

15 La composición de pienso descrita en el presente documento se puede suplementar con concentraciones de una composición que contiene ácidos grasos omega-3 tal como productos de aceite, gel, pasta, productos secos de algas, o una combinación de los mismos, o restos de los mismos, suficientes para proporcionar cantidades de ésteres/ácidos grasos omega-3 en la composición de pienso como una mezcla final que son eficaces para aumentar el transporte intestinal de nutrientes en las crías de un animal. De manera alternativa, la composición de pienso se 20 puede suplementar con una composición que contiene ácidos grasos omega-3, tal como aceite de pescado, harina de pescado, productos derivados de plantas, o combinaciones de los mismos, suficientes para proporcionar cantidades de ésteres/ácidos grasos omega-3 en la composición de pienso como una mezcla final que son eficaces para aumentar el transporte intestinal de nutrientes en las crías de un animal. La composición de pienso puede suplementarse con una combinación de fuentes que contienen ácidos grasos omega-3 de algas y no de algas.

25 De manera ilustrativa, la composición de pienso se puede suplementar con una composición que contienen ácidos grasos omega-3 en una cantidad desde aproximadamente un 0,01 % a aproximadamente un 60 % por peso de la composición de pienso como una mezcla final. De manera alternativa, la composición de pienso se puede suplementar con una composición que contiene ácidos grasos omega-3 en una cantidad desde aproximadamente un 0,1 % a aproximadamente un 0,5 % por peso de la composición de pienso como una mezcla final. De manera 30 alternativa, la composición de pienso se puede suplementar con una composición que contiene ácidos grasos omega-3 en una cantidad de aproximadamente 0,01 % a aproximadamente 0,3 % por peso, de aproximadamente 0,01 % a aproximadamente 0,5 % por peso, de aproximadamente 0,01 % a aproximadamente 0,8 % por peso, de aproximadamente 0,01 % a aproximadamente 1,0 % por peso, de aproximadamente 0,01 % a aproximadamente 1,5 % por peso, de aproximadamente 0,01 % a aproximadamente 3,0 % por peso, de aproximadamente 0,01 % a 35 aproximadamente 4,0 % por peso, de aproximadamente 0,01 % a aproximadamente 18 % por peso, de aproximadamente 0,01 % a aproximadamente 20 % por peso, de aproximadamente 0,01 % a aproximadamente 30 % por peso, de aproximadamente 0,01 % a aproximadamente 40 % por peso, de aproximadamente 0,01 % a aproximadamente 50 % por peso, de aproximadamente 0,01 % a aproximadamente 60 % por peso, o de aproximadamente 0,01 % a aproximadamente 90 % por peso de la composición de pienso como una mezcla final.

40 En cada uno de los casos se tiene que entender que el porcentaje de la composición que contiene ácidos grasos omega-3 por peso de la composición de pienso se refiere a la composición de pienso final (es decir, la composición de pienso como una mezcla final) que contiene la mezcla de pienso animal, la composición que contiene ácidos grasos omega-3 (por ejemplo, aceite de algas, lecho de algas u otro producto de algas seco, o restos de los mismos o aceite de pescado, etc.) y opcionalmente ingredientes añadidos. En dichas realizaciones de la invención, la composición que contiene ácidos grasos omega-3 puede derivarse de cualquier tipo de fuente de algas o no de algas.

50 En distintos aspectos, la composición que contiene ácidos grasos omega-3 como se describe en el presente documento se puede administrar en una forma encapsulada o no encapsulada en una mezcla con una mezcla de pienso para animales. La encapsulación protege los ésteres/ácidos grasos omega-3 y ésteres/ácidos grasos omega-6 de la rotura y/u oxidación antes de la digestión y absorción de los ésteres/ácidos grasos por el animal (es decir, la encapsulación aumenta la estabilidad de ácidos grasos) y proporciona un producto seco para mezclar más fácilmente con la mezcla de pienso para animales. Los ésteres/ácidos grasos omega-3 y ésteres/ácidos grasos omega-6 se pueden proteger de esta manera, por ejemplo, revistiendo el aceite con una proteína o cualquier otra de las sustancias conocidas en la técnica que sean agentes de encapsulación eficaces tales como polímeros, ceras, grasas, y aceites vegetales hidrogenados. Por ejemplo, un aceite u otro producto de algas o no de algas, pueden encapsularse utilizando una técnica reconocida en la técnica tal como una técnica de encapsulación en alginato Na^{2+} donde el aceite se recubre seguido por una conversión con alginato de Ca^{2+} en presencia de iones de Ca^{2+} para la encapsulación. De manera alternativa, el aceite u otro producto de algas o no de algas pue den encapsularse mediante una técnica reconocida en la técnica tal como envolver los ácidos grasos para estabilizar los ácidos grasos o granulación (es decir, atomizando un líquido fundido y enfriamiento de gotas para formar una perla). Por ejemplo, el aceite u otro producto de algas o no de algas se puede granular en copos de semilla de algodón hidrogenados o aceite de judía de soja hidrogenado para producir un aceite seco. El aceite u otro producto de algas o no de algas se 55 puede utilizar en una forma no encapsulada completamente, una forma completamente encapsulado, o se pueden 60 añadir mezclas de aceite encapsulado y no encapsulado a la composición de pienso. De manera alternativa, el aceite u otro producto de algas o no de algas se puede encapsular en una mezcla de pienso para animales.

Las composiciones de pienso descritas en el presente documento, cuando se dan como alimento *in utero* a través de la madre (por ejemplo, una cerda gestante) y/o a animales postnatales (por ejemplo, por lactancia a través de una cerda postparto o directamente al animal postnatal), puede dar como resultado no solo aumentos en el transporte intestinal, sino también en beneficios con respecto a la sensibilidad a la insulina, y aumentos en el rendimiento del crecimiento de animales postnatales (por ejemplo, un lechón). Se puede utilizar cualquiera de los métodos descritos anteriormente para aumentar el rendimiento de crecimiento (por ejemplo, un aumento de la tasa de crecimiento, una disminución de la relación pienso ganancia de peso, o un aumento de la eficacia de utilización del pienso) de las crías de un animal.

- 5 10 En consecuencia, se desvela en el presente documento un método para aumentar el rendimiento del crecimiento del animal postnatal. El método comprende la etapa de administración al animal postnatal o la madre de una composición de pienso que comprende una composición de algas que comprende ácidos grasos omega-3 o ésteres de los mismos, donde la composición de pienso como mezcla final comprende aproximadamente de un 0,01 % a 15 20 aproximadamente un 60 % por peso de la composición de algas y donde el animal es una cerda, un lechón, otra especie de animal de producción, un animal de compañía, o un ser humano.

De acuerdo con la presente divulgación, la composición de algas puede estar en forma de algas secas o un aceite derivado de las algas o un residuo de otra composición, y los ácidos grasos omega-3 pueden comprender ácidos grasos omega-3 C₂₂ o C₂₀.

- 20 25 30 También de acuerdo con la presente divulgación, la composición de pienso como mezcla final puede comprender de aproximadamente 0,01 % a aproximadamente 3,0 % por peso, de aproximadamente 0,01 % a aproximadamente 4,0 % por peso, de aproximadamente 0,01 % a aproximadamente 1,5 % por peso, de aproximadamente 0,01 % a aproximadamente 1,0 % por peso, de aproximadamente 0,01 % a aproximadamente 0,8 % por peso, de aproximadamente 0,01 % a aproximadamente 0,5 % por peso, de aproximadamente 0,01 % a aproximadamente 0,3 % por peso, de aproximadamente 0,1 % a aproximadamente 0,5 % por peso, de aproximadamente 0,01 % a aproximadamente 18 % por peso, de aproximadamente 0,01 % a aproximadamente 20 % por peso, de aproximadamente 0,01 % a aproximadamente 30 % por peso, de aproximadamente 0,01 % a aproximadamente 40 % por peso, de aproximadamente 0,01 % a aproximadamente 50 % por peso, o de aproximadamente 0,01 % a aproximadamente 60 % por peso de la composición de algas.

35 40 45 También de acuerdo con la presente divulgación, la composición de pienso como mezcla final puede comprender adicionalmente ácidos grasos omega-6 o ésteres de los mismos, la composición de pienso se puede administrar durante la lactancia, o diariamente al animal, la composición de pienso como mezcla final puede comprender adicionalmente un antioxidante, los ácidos grasos omega-3 en la composición de pienso pueden estar estabilizados por encapsulación, los ácidos grasos omega-3 pueden comprender ácido docosahexaenoico y ácido eicosapentaenoico, y los ácidos grasos omega-3 pueden comprender ácido docosahexaenoico, ácido eicosapentaenoico, y ácido docosapentaenoico. Adicionalmente de acuerdo con esta realización, la relación de ácido docosahexaenoico con respecto al ácido eicosapentaenoico puede ser de aproximadamente 60:1, aproximadamente 30:1, aproximadamente 25:1, aproximadamente 20:1, aproximadamente 15:1, aproximadamente 10:1, aproximadamente 5:1, aproximadamente 2:1, o aproximadamente 1:1. Las especies de animales de producción se pueden seleccionar de entre el grupo que consiste en pollos, caballos, ponys, vacas, pavos, faisanes, codornices, animales ovinos, cabras, avestruces y patos, y el animal de compañía se puede seleccionar de entre el grupo que consiste en una especie canina y una especie felina.

50 55 60 La presente divulgación puede comprender también realizaciones del método donde el animal postnatal se alimenta con una composición de pienso suplementada con una fuente no de algas de ácidos grasos omega-3 con cualquiera de las condiciones descritas anteriormente donde la relación de DHA:EPA es aproximadamente de 30:1 a aproximadamente 1:1.

Aunque ciertas realizaciones de la presente invención se describen y/o ejemplifican posteriormente, se contempla que son posibles variaciones y modificaciones considerables.

Ejemplo 1. Animales y diseño experimental

65 70 75 Se alimentaron veinte cerdas de cría (20 cerdas Línea Ausgene x verracos SPI) con una de cuatro dietas experimentales durante aproximadamente 150 días antes del parto de los cochinillos (Tabla 1). Los cuatro tratamientos de dieta experimental consistían en (1) una dieta básica de control con harina de maíz/soja (sin grasa añadida, "CONT"); (2) la dieta básica suplementada con aceite de pescado protegido (FERTILIUM™ o GROMEGA365™; JBS United Inc., Sheridan, IN [es decir, PFO]); (3) la dieta básica suplementada con grasas DHA de algas *Schizochytrium* (alDHA); (4) la dieta básica suplementada con grasa seca de coco (COCO).

80 85 90 Los perfiles de ácidos grasos de las dietas se presentan en la Tabla 2. Ambos ingredientes del aceite de pescado protegido y alDHA tenían una alta concentración de (n-3) de PUFA y contenían un 29 y un 43 % de grasa total, respectivamente. El resto de estos ingredientes comprendían proteínas y carbohidratos. La dieta alDHA contenía un 40 % de DHA y un 2 % de EPA por porcentaje de grasa, mientras que la de PFO tenía aproximadamente un 13 % de

EPA y un 13 % de DHA. La grasa total de las cuatro dietas era diferente. Sin embargo, el porcentaje de DHA en la dieta alDHA era igual al porcentaje de DHA en la dieta PFO. El ingrediente en grasa del COCO consistía en un 88 % de grasa saturada (alto en ácidos grasos saturados C10:0-C16:0) como porcentaje de grasa. Todas las dietas (Tabla 1) cumplían y excedían las necesidades nutricionales para las cerdas gestantes y lactantes [véase, NCR, Nutritional Requirements of Swine, 10^a ed., Washington, DC: Natl. Acad. Press (1998)] y todos los lechones tenían acceso al agua en cualquier momento.

Aunque parieron en dos grupos repetidos durante dos semanas, las camadas se normalizaron a diez cochinillos por camada a las 24 horas del nacimiento, se produjo la adopción cruzada solamente dentro del tratamiento.

10 Posteriormente, a los 14-17 días de edad, se separó aleatoriamente un lechón de tamaño medio (4,1 kg ± 0,49) por camada de la madre, y se agrupó en una pocilga con lechones de otras camadas y se dejaron en ayuno durante una noche para simular el proceso de destete (total n = 4 por tratamiento). Después del destete simulado, los lechones se sacrificaron con una pistola de bala cautiva seguido por la exanguinación inmediata y escisión de los tejidos. Se recolectaron muestras de yeyuno del intestino delgado, hígado y músculos y se congelaron instantáneamente en nitrógeno líquido, y las muestras de yeyuno se colocaron en formalina al 10 % para los análisis posteriores.

Ejemplo 2. Análisis de ácidos grasos

20 Una semana después del parto, se obtuvieron aproximadamente 40 ml de leche de media lactancia de cuatro cerdas de cada dieta de tratamiento a continuación de una inyección i.v de 10 UI de oxitocin-S (Intervet, Millsboro, DE USA) para inducir la secreción de leche. Se ordeñaron aleatoriamente varias ubres de cada cerda, se agruparon y se congelaron instantáneamente en hielo seco pendientes del análisis de ácidos grasos. Los lípidos de las muestras de leche, músculo e hígado se extrajeron por el método de Lepage y Roy [J. Lipid Res, 27: 114-120 (1986)], con mínimas modificaciones. En resumen, se homogeneizaron 0,5 g de tejido o 300 µl de leche en 2,5 ml de

25 metanol:hexano 4:1 y se añadieron 200 µl de ácido heptadecanoico 3,7 mmol/l de metanol a cada muestra como referencia interna.

30 Se analizaron los metilésteres de ácidos grasos mediante cromatografía de gases en un Hewlett-Packard modelo 6890 (Hewlett-Packard, Palo Alto, CA) ajustado con una columna de capilaridad Omegawax 320 (30 m x 0,32 mm ID, 0,25 µm) (Sigma-Aldrich, St Louis, MO USA). El hidrógeno era el vehículo gaseoso. La temperatura programada variaba desde 80 °C a 250 °C con un aumento de temperatura de 5 °C/min. Las temperaturas del inyector y el detector eran de 250 °C y se inyectó 1 µl de muestra y se ejecutó sin dividir. Los ácidos grasos se identificaron por sus tiempos de retención en la columna con respecto a las referencias apropiadas.

35 Las madres gestantes y lactantes alimentadas con las dietas CONT, PFO, alDHA o COCO, que variaban considerablemente en sus perfiles de ácidos grasos, tenían en consecuencia cambios de la composición de ácidos grasos en la leche (Tabla 3). Las dietas PFO y alDHA tenían las proporciones más altas (n-3) de ácidos grasos, reflejando de esta manera la concentración de ingredientes DHA y EPA particulares. Como resultado, la leche de las madres alimentadas con las dietas CONT y COCO tenían relaciones de ácidos grasos (n-6):(n-3) más altas que las de las madres alimentadas con las otras dos dietas. Adicionalmente, la leche de las cerdas alimentadas con la dieta de COCO era más alta en ácidos grasos saturados totales en comparación con la de PFO y alDHA, pero no en comparación con la leche de CONT (P<0,05, Tabla 3). De los ácidos grasos saturados encontrados en la leche de las cerdas, el C12:0 era seis veces mayor en las muestras de leche de COCO en comparación con CONT o (n-3) PUFA (P<0,05, Tabla 3).

40 45 Los perfiles de ácidos grasos en el intestino delgado y músculo de los lechones se presentan en la Tabla 4. La suplementación de ácidos grasos (n-3) PUFA mediante la dieta maternal PFO aumentaba la concentración total de (n-3) PUFA en el intestino delgado y músculo de los lechones, un 200 y 400 %, respectivamente, vs. El grupo de CONT (Tabla 4). Este aumento reflejaba el porcentaje de DHA y/o EPA de las dietas de las cerdas (Tabla 2) y la leche (Tabla 3), y se correspondía significativamente con la disminución de las relaciones (n-6):(n-3) en todos los tejidos ensayados (Tabla 4).

Ejemplo 3. Cámara Ussing

50 55 Las muestras de yeyuno proximal comenzando a 40 cm del estómago que consistían en un segmento de 20-30 cm de yeyuno proximal, se retiraron y colocaron en un tampón de Krebs-Henseleit enfriado (que consistía en mmol/l: 25 de NaHCO₃, 120 de NaCl, 1 de MgSO₄, 6,3 de KCl, 2 de CaCl₂, 0,32 de NaH₂PO₄; pH 7,4) para el transporte de vuelta al laboratorio (< 40 min) con aireación constante hasta cerrarlas en la cámaras Ussing. Se separaron las capas musculares externas de dos segmentos de yeyuno por cerdo y se montaron inmediatamente en Cámaras Ussing (DVC 1000 World Precision Instruments, New Haven, CT USA).

60 65 Cada segmento se bañó por su superficie mucosa y serosa (área de apertura de 1,0 cm²) con 8 ml de solución de Krebs y se gaseó con una mezcla de un 95 % de O₂-5 % CO₂. Los segmentos intestinales se pinzaron con una tensión de cero mV mediante una corriente externa tras la corrección de la resistencia de la solución. Después de un periodo de 30 minutos para permitir que el tejido se estabilizara, se desafilaron independientemente con 10 mmol/l de D-glucosa y 10 mmol/l de L-glutamina que se añadieron al tampón seroso con adición de manitol equimolar (10

mmol/l) en el lado mucoso.

Se midió la diferencia de potencial a través del tejido durante 30 min después de cada desafío mediante condiciones de circuito abierto cada 10 segundos debido a que se suministró una corriente de cortocircuito mediante un aparato de pinza de tensión. Se registró el cambio de la corriente máxima y se calculó la conductancia del tejido desde la corriente de corto circuito y la diferencia de potencial utilizando la ley de Ohm. Esto se repitió en cuatro días diferentes con un total de cuatro cerdos por tratamiento.

Se evaluó la absorción de nutrientes *ex vivo* en el yeyuno a continuación de la adición de 10 mmol/l de D-glucosa o L-glutamina de tres maneras: (1) la corriente de cortocircuito, que mide el cambio en el transporte activo de iones; (2) la conductancia, que mide los cambios en el transporte total de iones; y (3) el transporte pasivo de iones, que se mide por cambios en la resistencia.

El transporte activo era significativamente mayor a continuación de la adición de D-glucosa en los tejidos obtenidos de los lechones de madres alimentadas con las dietas alDHA y PFO vs. Los lechones de CONT ($P < 0,05$, Fig. 1, panel A). Sin embargo, solo el transporte de glucosa con el tratamiento con alDHA era significativamente mayor que en los lechones de COCO ($P < 0,05$, Fig. 1, panel A). En comparación con los tejidos de CONT, la captación activa de D-glucosa del tejido de lechones alDHA era un 470 % mayor, pero las dietas PFO y COCO también daban como resultado una captación mayor vs. la de CONT (un 320 % y 40 %, respectivamente). Véase también la Fig. 5. Sin embargo, la captación activa de L-glutamina solo era mayor en el tejido de lechones de madres alimentadas con la dieta alDHA en comparación con los lechones de CONT y PFO (Fig. 1, panel B). Ni el transporte de iones total ni el pasivo estaban afectados por la suplementación de (n-3) PUFA o COCO en la dieta (datos no mostrados).

Ejemplo 4. Determinación del glucógeno en el músculo e hígado

Las muestras de músculo (*longissimus dorsi*) o tejido hepático (0,5 g) se extrajeron en ácido perclórico (0,5 mol/l) enfriado en hielo utilizando un homogeneizador Tissue Tearor. Las muestras por duplicado (300 μ l) de cada homogenado se prepararon entonces por hidrólisis glicogénica con 0,3 g/l de amiloglucosidasa (Sigma-Aldrich, St Louis, MO USA) durante 120 minutos a 38 °C. La incubación se paró por adición de 0,6 mol/l de ácido perclórico y se clarificaron las muestras por centrifugación (1.500 \times g, 15 minutos a 4 °C). Se utilizaron kits de ensayo (HK) de glucosa (Sigma-Aldrich, St Louis, MO USA) para determinar las unidades de glicosilo micromolar totales (glucosa, glucosa-6-P, y glucosa a partir de glucógeno) a partir de las muestras clarificadas y a partir del homogenado original (solo glucosa, glucosa-6-P). Los resultados se expresaron como mg de unidades glicosilo por g de tejido húmedo.

Aunque las concentraciones de glucosa muscular no se alteraban con el tratamiento alimentario (Fig. 4, panel A), el glucógeno y las unidades totales de glicosilo aumentaron ($P = 0,05$) en los lechones de madres alimentadas con la dieta alDHA vs. la dieta de CONT. Por el contrario, las concentraciones no cambiaron en los lechones de madres alimentadas con las dietas de PFO y COCO. Al igual que el músculo, el glucógeno hepático y las unidades totales de glicosilo en los lechones de madres alimentadas con la dieta alDHA tendían a ser mayores ($P = 0,089$, Fig. 4, panel B). Ni las dietas con (n-3) PUFA, ni la dieta de COCO, alteraban las concentraciones de glucosa hepática en comparación con el CONT.

Ejemplo 5. Extracción de ARN y PCR cuantitativa

Se recuperó el ARN total de las células utilizando el reactivo Trizol (Invitrogen, Carlsbad, CA USA), se trató con DNasea utilizado la Turbo DNase® (Ambion; Houston, TX USA) y el ARN total (2 μ g) se transcribieron de manera inversa utilizando el kit de síntesis iScript cDNA (BioRad; Hercules, CA USA).

Las secuencias eran: AMPK α 2 porcino, 5'-cgacgtggagctgtactgctt-3' y 5'-cataggtcaggcagaacttgc-3', SGLT1 porcino, 5'-cgtgctttccagatgtg-3' y 5'-atcagctccatgaccagctt-3', y proteína ribosómica porcina L32 (constitutiva), 5'-tggaaagagacgttgagcaa-3' y 5'-cggaaagtctgttgcacacaatgtaa-3', todas las secuencias eran en sentido y antisentido respectivamente.

Las condiciones del ciclador térmico para las reacciones de PCR eran de 95 °C durante 3 min seguido por 40 ciclos de 95 °C durante 15 s, 65 °C durante 30 s, y 72 °C durante 30 s. Los productos amplificados de la reacción en cadena de polimerasa se clonaron en el vector pGEMT (Promega, Madison, WI USA) y se secuenciaron para su verificación. Las reacciones en tiempo real se llevaron a cabo en una máquina iCycler real-time utilizando el kit IQ™ SYBR Green Supermix (BioRad, Hercules, CA USA). Se calculó la cantidad de producto genético regresando contra la curva de referencia generada en la misma reacción por sus plásmidos respectivos y valores genéticos normalizados al gen constitutivo de la proteína L32 ribosómica (RPL32) que no estaba afectado por el tratamiento alimentario ($P > 0,10$).

Para confirmar el aumento de captación de glucosa en los tratamientos con (n-3) PUFA y para validar un mecanismo potencial, se examinó la expresión proteica de GLUT2 y SGLT1 y la cantidad de ARNm de SGLT1. En comparación con el yeyuno de lechones de CONT, los análisis de inmunotransferencia semicuantitativos demostraron que los lechones con el tratamiento de PFO, alDHA y COCO tendían a tener una expresión total de proteína GLUT2 mayor

aproximadamente un 20 % ($P = 0,095$, Fig. 2). Además, las dietas PFO y alDHA daban como resultado una expresión total de proteína SGLT1 significativamente mayor en comparación con los lechones de madres alimentadas con la dieta CONT ($P < 0,05$, Fig. 3), mientras que no había ningún efecto con la dieta COCO. Véase también las Fig. 6 y 7. También se llevó a cabo la PCR cuantitativa para determinar si la cantidad de ARNm (es decir, la cantidad log de inicio) de SGLT1 también estaba influenciada por la dieta materna. La suplementación de ácidos grasos en la dieta no altera la expresión de ARNm de SGLT1 en el yeyuno (datos presentados como la cantidad de inicio log para COT (1,87), PFO (1,71), alDHA (1,84) y COCO (1,70), SEM agrupado = 0,14).

Ejemplo 6. Expresión proteica

Las secciones completas de yeyuno (1 g) congeladas se descongelaron y homogeneizaron en hielo en 700 μ l de tampón A (50 mmol/l de Tris-HCl pH 7,5, 50 mmol/l NaF, 5 mmol/L de pirofosfato sódico, 1 mmol/l de EDTA, 1 mmol/l de DTT, 9,1 mmol/l de fenilmethylsulfonil fluoruro, un 10 % de glicerol) que contiene un 1 % de Triton X-100, 5 μ mol/l de aprotinina, leupeptina, y pepstatina. Los lisados se centrifugaron a 6.000 x g durante 20 minutos a 4 °C para retirar el material insoluble. Se recolectaron los sobrenadantes y se cuantificaron las proteínas utilizando los reactivos BCA (Pierce, Rockford, IL USA) y se congelaron hasta su ensayo. Los lisados de yeyuno se utilizaron tanto para el ensayo de AMPK y al análisis de transferencia de western.

Se determinó la cantidad de las proteínas GLUT2 (~60 kDa) y SGLT1 (~70 kDa) se determinó por análisis de transferencia de western. En resumen, el sobrenadante que contenía 200 μ g de proteína se inmunoprecipitó a temperatura ambiente durante 2 horas utilizando el Sistema de inmunoprecipitación reversible Catch and Release v2.0 (Upstate Cell Signaling Solutions, Charlottesville, VA USA). Tanto GLUT2 como SGLT1 se inmunoprecipitaron con anticuerpos primarios (Chemicon International, Temecula, CA USA) diluidos 1:100. Las proteínas inmunoprecipitadas se separaron mediante SDS-PAGE utilizando un 12 % de gel de resolución y se transfirieron a una membrana de nitrocelulosa y se hibridaron durante una noche con los anticuerpos primarios para GLUT2 O SGLT1 (1:1000). Las membranas se hibridaron con un anticuerpo de cabra-HRP anti-IgG de conejo (Pierce, Rockford, IL USA) a 1:20.000 durante 1 h a temperatura ambiente. Las transferencias se desarrollaron utilizando el sistema de sustrato quimioluminiscente the SuperSignal West Pico (Pierce, Rockford, IL USA), capturado en una micro-película para el análisis y densitometría de la proteína determinada utilizando el software de análisis Quantity One 1-D (Bio-Rad, Hercules, CA USA).

Ejemplo 7. Análisis estadístico

Todos los datos se presentan como las medias \pm SEM agrupado. Los efectos de los ácidos grasos se ensayaron mediante el procedimiento PROC MIXED en SAS (Versión 9,1, SAS Institute, Cary, NC) y se evaluaron las diferencias de tratamiento utilizando diferencias significativas mínimas, que proporcionan todas comparaciones de modo pareja. La camada/lechón se consideró la unidad experimental y el replicado experimental o el día de la recolección se consideró un efecto aleatorio. Las diferencias se consideraron significativas cuando $P < 0,05$, y se anotaron las tendencias a $P < 0,10$.

Ejemplo 8. Animales y diseño experimental

Se alimentaron treinta dos hembras (madres Línea Ausgene 20 x verraco SPI) con una de dos dietas experimentales durante aproximadamente 150 días para englobar el periodo de gestación completo o 17-19 días durante el periodo de lactancia antes del destete. Los tratamientos alimentarios (Tabla 5) consistían en las siguientes: 1) dieta básica de control con harina de maíz/soja (sin grasa añadida, CONT); o 2) la dieta básica suplementada con un producto de aceite de pescado protegido ([PFO], Gromega 365™; JBS United Inc., Sheridan, IN). El producto PFO contiene un 29 % de grasa total como n-3 PUFA, con aproximadamente un 13 % de EPA y un 13 % de DHA. Las dietas de gestación y lactancia se formularon para satisfacer o exceder todas las necesidades para las cerdas gestantes y lactantes [NRC, Nutritional Requirements of Swine, 10^a ed., Natl. Acad. Press, Washington, DC (1998)]. Las madres y los lechones tenían acceso al agua en cualquier momento.

En el parto de los cochinos después de aproximadamente 150 días de las dietas de gestación las camadas se normalizaron a diez lechones por madre. Para conseguir la exposición de los lechones a los ácidos grasos n-3 solo durante el periodo de gestación o al mamar (lactancia), las camadas se intercambiaron recíprocamente de manera que las madres alimentadas con dieta CONT recibían lechones de una madre alimentada con dieta PFO, y viceversa, durante 15-19 días. Los cuatro tratamientos ahora consistían en una alimentación de gestación/lactancia para dar lechones CONT/CONT, CONT/PFO, PFO/PFO o PFO/CONT. A los 15-19 días de edad, se transfirió aleatoriamente un lechón de tamaño medio ($5,4 \pm 0,50$ kg) por camada a una sala separada de las madres, se agruparon en una pocilga y se dejaron en ayuno durante una noche para simular el proceso de destete (total $n = 6$ por tratamiento). A la mañana siguiente, los lechones se sometieron a eutanasia y se recolectaron las muestras tisulares. Se recolectaron muestras de yeyuno del intestino delgado y músculos y se congelaron en nitrógeno líquido, y se colocaron muestras de yeyuno adicionales en formalina al 10 % para los análisis posteriores.

Ejemplo 9. Análisis de ácidos grasos

Los lípidos se trajeron del músculo e hígado de los lechones por el método de Lepage y Roy [J. Lipid Res, 27: 114-120 (1986)], con mínimas modificaciones. En resumen, se homogeneizaron 0,5 gramos de tejido en 2,5 ml de metanol:hexano 4:1 y entonces se añadieron 200 μ l de una solución de 3,7 mmol de ácido heptadecanoico/l de metanol a cada muestra como referencia interna. Se analizaron los metilésteres de ácidos grasos mediante cromatografía de gases en un Hewlett-Packard modelo 6890 (Hewlett-Packard, Palo Alto, CA) ajustado con una columna de capilaridad Omegawax 320 (30 m x 0,32 mm ID, 0,25 μ m) (Sigma-Aldrich, St Louis, MO USA). El hidrógeno era el vehículo gaseoso. La temperatura programada variaba desde 80 °C a 250 °C con un aumento de temperatura de 5 °C/min. Las temperaturas del inyector y el detector eran de 250 °C y se inyectó 1 μ l de muestra y se ejecutó sin dividir. Los ácidos grasos se identificaron por sus tiempos de retención en la columna como se juzgó por las referencias apropiadas.

Los tejidos de los lechones reflejaban los perfiles de ácidos grasos alimentarios de la dieta materna

Los perfiles de ácidos grasos para el yeyuno y el músculo longissimus se presentan en las Tablas 14 y 15. La alimentación con PFO durante la gestación y lactancia daba como resultado contenidos significativamente ($P<0,05$) más altos de n-3 PUFA tanto en yeyuno y músculo vs el régimen CONT/CONT. Este aumento se conseguía tanto para el DHA como EPA en el yeyuno, pero el músculo presentaba un enriquecimiento sobre todo como DHA. La eliminación de la dieta PFO al inicio de la lactancia producía una disminución significativa de los contenidos de DHA, EP, y n-3 total en ambos tejidos. Sin embargo, la alimentación con dieta PFO durante solo el periodo de lactancia se conseguía un enriquecimiento similar al de la alimentación con esta fuente de n-3 durante los 150 días completos.

Ejemplo 10. Cámara Ussing

Las muestras de yeyuno proximal comenzando a 40 cm del estómago que consistían en un segmento de 20-30 cm de yeyuno, se retiraron y colocaron en un tampón de Krebs-Henseleit enfriado (pH 7,4), que consistía en lo siguiente: 25 mM NaHCO₃, 120 mM NaCl, 1 mM MgSO₄, 6,3 mM KCl, 2 mM CaCl, 0,32 mM NaH₂PO₄. Los tejidos se aireaban continuamente hasta fijarlos en las cámaras Ussing en el laboratorio. Se retiró la túnica muscular a partir de dos segmentos del yeyuno por cerdo, y se montaron inmediatamente en las cámaras Ussing (DVC 1000 World Precision Instruments, New Haven, CT USA). Cada segmento se bañó por su superficie mucosa y serosa (área de apertura de 1,0 cm²) con 8 ml de solución de Krebs y se gaseó con una mezcla de un 95 % de O₂-5 % CO₂. Se pinzó con una tensión de 0 mV mediante una corriente externa tras la corrección de la resistencia de la solución. Después de un periodo de 30 minutos para permitir que los tejidos se estabilizaran, se desafiaron con 10 mM de D-glucosa que se añadieron al tampón seroso, y se añadió una concentración de manitol equimolar al tampón mucoso. Adicionalmente, las muestras de yeyuno de algunos lechones CONT/CONT se montaron, estabilizaron y trajeron (mucosa) con 0,1 mM de DHA o 2,5 mM de AICAR solubilizado en 20 mM de ácido taurocólico. La captación de glucosa se evaluó entonces después de 20 minutos, con los tejidos desafiadados con 10 mM de D-glucosa como se ha descrito anteriormente. Se midió la diferencia de potencial a través del tejido durante 30 minutos después de cada desafío mediante condiciones de circuito abierto cada 10 segundos debido a que se suministró una corriente de cortocircuito mediante un aparato de pinza de tensión. Se registró el cambio de la corriente máxima y se calculó la conductancia del tejido desde la corriente de corto circuito y la diferencia de potencial utilizando la ley de Ohm. Este procedimiento se repitió en cuatro días diferentes con un cerdo de cada régimen alimentario para alcanzar un total de cuatro cerdos por tratamiento.

Transporte de glucosa

Se compararon los cambios en el transporte activo de glucosa en el yeyuno de lechones destetados de madres alimentadas con dietas CONT o PFO. Como se muestra en la Fig. 5, la alimentación con PFO a lo largo de la gestación y lactancia aumentaba la captación de glucosa en un 500 % (5 vs 25 μ A/cm², $P<0,05$), y proporcionado la fuente n-3 solo en la gestación mejoraba la captación de glucosa aproximadamente un 400 %. Por el contrario, la alimentación con PFO solo en la lactancia impedía cualquier aumento significativo de la captación de glucosa (15 vs 5 μ A/cm², respectivamente, $P = 0,16$).

Ejemplo 11. Análisis de inmunotransferencia de proteínas de transporte de glucosa en preparaciones totales y de la membrana en borde de cepillo

Se retiró el yeyuno proximal intacto reciente, se lavó con solución salina y se colocó en hielo mientras se retiraban aproximadamente 4 g de mucosa y se transfirieron a 2 mM de tampón Tris-HCl frío (pH 7,1) que contenía 50 mM de manitol e inhibidores de proteasa (5 μ M de aprotinina, leupeptina, y pepstatina). La mucosa se homogeneizó entonces y se añadió PEG 4000 hasta una concentración final de un 10 % y se agitó en hielo durante 15 minutos. El homogenizado se centrifugó entonces durante 15 minutos a 7.500 x g y la fracción de sobrenadante resultante se centrifugó a 27.000 x g durante 60 minutos a 4 °C. El aglomerado se lavó en tampón de suspensión (10 mM de Tris-HCl, pH 7,1, que contenían 300 mM de manitol e inhibidores de proteasa 5 μ M de aprotinina, leupeptina y pepstatina) y se recolectaron de nuevo por centrifugación durante 5 minutos, 27.000 x g a 4 °C. El aglomerado de membrana de borde en cepillo en bruto (BBM) se suspendió en 1 ml de tampón de suspensión. Para la preparación de membranas totales, las secciones de yeyuno (1 g) congeladas se homogeneizaron en hielo en 700 μ l de tampón A (50 mM de Tris-HCl pH 7,5, 50 mM de NaF, 5 mM de pirofosfato sódico, 1 mM de EDTA, 1 mM de DTT, 0,1 mM de

fenilmetsulfonil fluoruro, un 10 % de glicerol) que contiene un 1 % de Triton X-100 y 5 μ M de aprotinina, leupeptina, y pepstatina. Los homogenados se centrifugaron a 6.000 x g durante 20 minutos a 4 °C para retirar el material insoluble. Las concentraciones proteicas de las preparaciones de BBM totales se determinaron utilizando los reactivos BCA (Pierce, Rockford, IL USA). Las preparaciones totales finales y de membrana con borde de cepillo se congelaron a -80 °C hasta que se ensayaran. La pureza de las preparaciones de membrana con borde en cepillo según se medían con fosfatasa alcalina no estaban afectadas por el tratamiento (datos no mostrados).

Se determinó la cantidad de proteína GLUT2 y SGLT1 en la BBM total y bruta mediante análisis de transferencia de western. En resumen, las preparaciones que contenían 250 μ g de proteína se inmunoprecipitaron a temperatura ambiente durante 2 h utilizando el Sistema de inmunoprecipitación reversible Catch and Release v2.0 (Upstate Cell Signaling Solutions, Charlottesville, VA USA). Tanto GLUT2 como SGLT1 se inmunoprecipitaron con anticuerpos primarios (Chemicon International, Temecula, CA USA) diluidos 1:100. Las proteínas inmunoprecipitadas se separaron mediante SDS-PAGE utilizando un 12 % de gel de resolución y se transfirieron a una membrana de nitrocelulosa y se incubaron durante una noche con los anticuerpos primarios para GLUT2 o SGLT1 (diluidos a 1:1000).

Expresión de proteínas de transporte de glucosa en el yeyuno

Las inmunotransferencias de la cantidad de GLUT2 en las preparaciones de BBM en bruto presentaban un enriquecimiento pequeño pero significativo ($P<0,05$) en la última fracción obtenida de los lechones de madres que consumieron las dietas PFO (Fig. 6, panel A), pero no había un cambio aparente en la cantidad de los homogenados totales (Fig. 6, panel B). Este resultado no estaba influenciado por la duración del régimen de PFO ni era específico para los períodos de gestación o lactancia.

Se llevaron a cabo inmunotransferencias similares para SGLT1. Como se ve en la Fig. 7, panel A, el régimen alimentario CONT/PFO tenía a aumentar la cantidad de la proteína SGLT1 en las preparaciones BBM, pero solo el régimen PFO/CONT era significativo ($P<0,05$). Por el contrario, la alimentación con PFO en cualquier régimen alimentario aumentaba ($P<0,06$) la cantidad de proteína SGLT1 en el homogenado total (Fig. 7, panel B).

Ejemplo 12. Análisis estadísticos

Todos los datos se expresan como las medias \pm SEM. Los efectos del régimen de tratamiento alimentario se determinaron mediante el procedimiento PROC MIXED en SAS (Versión 9,1, SAS Institute, Cary, NC) y se establecieron las diferencias utilizando un procedimiento de diferencias significativas mínimas cuando se protegen por un valor F significativo. El efecto de la gestación, lactancia o gestación y lactancia de la alimentación con n-3 PUFA se evaluó en el modelo. La camada/lechón se consideró la unidad experimental y el replicado experimental o el día de la recolección se consideró un efecto aleatorio. Las diferencias se consideraron significativas cuando $P < 0,05$, y se anotaron las tendencias a $P < 0,10$.

Ejemplo 13. Diseño experimental

Se emplearon un total de cuatro tratamientos alimentarios experimentales. Los tratamientos alimentarios consistían en 1) una dieta básica de harina de maíz/soja (sin grasa añadida, de control), o la dieta básica suplementada con cualquiera de 2) aceite de pescado protegido (Fertilium™ o PFO), 3) aDHA, y 4) grasa de coco extruida (Coco) (Tabla 1). Los perfiles de ácidos grasos de los ingredientes alimentarios utilizados para proporcionar los ácidos grasos a distintas dietas se muestran en la Tabla 7. La composición de ácidos grasos de todas las dietas utilizadas en este experimento se equilibró al porcentaje del total de grasa cruda de las dietas, con el porcentaje de DHA de las dietas de DHA coincidentes con el porcentaje de ADHA calculado en la dieta Fertilium™. Las cerdas se alimentaron con una dieta de gestación y lactancia (Tablas 1, 2 y 8) continuamente comenzando aproximadamente 35 d antes de la monta. Los lechones en cría se introdujeron a las dietas de inicio y se llevaron a una cuarta fase de régimen alimentario (Tabla 9). Al salir de los criaderos, los cerdos estaban en la fase de dietas de pienso (Tabla 10) que contenían uno de los cuatro tratamientos experimentales.

Ejemplo 14. Animales

Cerdas y lechones

Las cerdas se alojaron en una pocilga de gestación y zonas de parto que tenían clima controlado. Doscientas cuarenta cerdas genéticamente AusGene se colocaron en uno de cuatro tratamientos experimentales aproximadamente 35 d antes de la monta. Las cerdas secas y lactantes tenían libre acceso al agua en cualquier momento y se alimentaron dos veces al día. Se formaron camadas experimentales normalizando las camadas dentro de cada tratamiento. Dentro del tratamiento, todos los lechones de ese día de parto se agruparon y entonces se pesaron individualmente según se adoptaban de manera cruzada de vuelta con cerdas del mismo tratamiento. Las cerdas experimentales tenían aproximadamente 10-11 lechones. Los pesos de los lechones individuales, el número total y los datos de sexo se registraron para cada camada experimental y los lechones se tatuaron y se les hicieron muescas en las orejas según tratamiento, camada y número del lechón.

Aproximadamente 2200 lechones se colocaron en los tratamientos de destete (Tabla 9) y se destetaron en tres porquerizas en la granja de producción al día siguiente. Los lechones de cerdas alimentadas con los trat. 2-4 se dividieron completamente y se mantuvieron con el tratamiento de la cerda o se cambiaron a Coco (si habían estado en dietas con PUFA) o PFO si habían tenido la dieta de Coco. Por lo tanto, los tres tratamientos se convirtieron en siete que consistían en los siguientes: el de control que se mantuvo como control; el PFO, PFO/Coco o PFO/PFO, DHA, DHA/Coco o DHA/DHA y Coco, Coco/PFO o Coco/Coco. Se intentaba que las pocilgas de destete tuvieran 24 cerdos por pocilga, mismo sexo, peso y distribuciones covariantes. Las pocilgas de cría se clasificaron en bloques aleatoriamente en las porquerizas y se alcanzaron un total de nueve repeticiones de tratamientos.

10 *Cría*

Los criaderos en la granja de producción también se controlaron con termostatos a una temperatura inicial de 30 °C y la temperatura se disminuyó semanalmente hasta una temperatura diana de 25 °C. Los lechones tenían acceso libre al agua y se alimentaron *ad libitum* con una dieta granulada de inicio durante dos semanas antes de cambiarles a una dieta básica. Al final de la semana 13, los cerdos, manteniendo la disposición de las pocilgas, se transfirieron a una final dentro de la misma porqueriza.

20 *Recria-finalización*

25 Dentro de las porquerizas, los cerdos tenían acceso al agua y se alimentaron de nuevo *ad libitum* con un pienso básico que contenía el tratamiento de control, PFO, DHA o Coco (Tabla 10).

25 *Rendimiento total de crecimiento*

30 La eficacia de conversión del pienso tenía a mejorar hasta un 2,5 % ($P<0,10$, Tabla 11) en todos los tratamientos PFO o DHA, excepto para los cerdos que habían tenido una exposición a Coco *in utero*, en comparación con el tratamiento de control. La exposición de los lechones a EPA y DHA *in utero* y en la leche de la cerda mejoraron la conversión de pienso en las crías ($P<0,10$).

35 *Aumento en la tasa de crecimiento pre-destete de los lechones y reducción de la mortalidad pre-destete cuando las cerdas se alimentaron con n-3 PUFA durante la gestación y lactancia*

40 Las cerdas se alimentaron con dietas de maíz/sbm suplementadas con n-3 PUFA protegidos de Fertilium™ para proporcionar un 0,022 % de DHA y EPA en la alimentación final de la cerda (Tablas 12 y 13). Las dietas se administraron a las cerdas desde aproximadamente 35 días antes de la monta y durante todo el periodo de gestación y lactancia posterior. Las camadas se normalizaron al mismo número de lechones. El número de lechones y el peso de la camada se recopiló a los 14 días del parto para determinar el impacto pre-destete sobre la tasa de crecimiento y la tasa de mortalidad en los lechones. La dieta Fertilium™ aumentaba el número de cerdos destetados y el peso de los cerdos al destete (Tabla 12 y 13).

45 **Ejemplo 15. Análisis estadísticos**

50 Todos los datos se analizaron por el procedimiento PROC MIXED en SAS (Versión 9.1, SAS Institute, Cary, NC). En los experimentos de lactancia, la cerda se consideró la unidad experimental y se incluyeron en bloques por semana y zona de parto. Para los datos experimentales de cría y recria-finalización, la unidad experimental era la pocilga y se incluyeron en bloques por tratamiento y por las nueve repeticiones generadas al destete.

55 **Ejemplo 16. Transporte de nutrientes en pollos**

60 Se alojaron nuevo gallinas capa Leghorn S1 en gallineros individuales en una sección de unas instalaciones de ambiente controlado. Las gallinas se alimentaron con dietas que se diferenciaban en el contenido en ácidos grasos n-3 poliinsaturados (PUFA) y ácido docosahexaenoico (DHA), y se formularon para cumplir los requisitos de aves de corral del NRC (National Research Council, 1994. Nutrient requirements of poultry. 9^a Ed. NRC, Washington D.C.).

65 Los tres tratamientos alimentarios se suministraron para evaluar el impacto de la ingesta materna de n-3 PUFA y DHA sobre la captación intestinal de nutrientes de las crías. Los tratamientos incluían: 1) (CON) Dieta suplementada con aceite de soja con una inclusión en la dieta del 2,7 %; 2) Dieta (PFO) suplementada con aceite de pescado protegido de GROMEGA 365™ (JBS United, Sheridan, IN) con un 13,56 % de la dieta para proporcionar una fuente no de algas de DHA; o 3) (aDHA) Dieta suplementada con DHA de algas *Schizochytrium* con un 1,13 % de la dieta (Tabla 1). Adicionalmente el suministro de aceite de pescado protegido y algas se formuló para que fuera igual para los tratamientos de PFO y DHA (Tabla 2). Las dietas se formularon basándose en la ingesta de pienso diaria de 115 g/gallina/d.

Tabla 1. Dietas experimentales ^a

Ingredientes, %	Control	alDHA ³	PFO ^b
Maíz	62,00	65,48	53,63
Harina de soja	24,96	23,03	22,43
Caliza	7,75	7,75	7,75
Aceite de soja	2,70	0,00	0,00
alDHA ^a	0,00	1,13	0,00
PFO ^b	0,00	0,00	13,56
Fosfato dicálcico	1,42	1,43	1,46
Premezcla de vitaminas	0,50	0,50	0,50
Sal	0,40	0,40	0,40
DL-Metionina	0,11	0,13	0,12
Premezcla de minerales	0,10	0,10	0,10
Premezcla de selenio	0,05	0,05	0,05

^aalDHA = algas *Schizochytrium*^b PFO = aceite de pescado protegido**Tabla 2.** Contenido formulado de ácido eicosapentaenoico (EPA) y ácido docosahexaenoico (DHA) de las dietas experimentales e ingesta diaria calculada (g/d)

	Control	alDHA ^a	PFO ^b
Tasa de inclusión del suplemento, %	0,00	1,13	13,56
Contenido en EPA del suplemento, %	0,00	0,99	2,61
Contenido en DHA del suplemento, %	0,00	20,94	1,73
EPA suplementado a la dieta de las gallinas, %	0,00	0,01	0,35
DHA suplementado a la dieta de las gallinas, %	0,00	0,24	0,24
Ingesta diaria estimada, g/d	115	115	115
Ingesta de EPA estimada, g/d	0,00	0,01	0,41
Ingesta de DHA estimada, g/d	0,00	0,27	0,27

^a alDHA = algas *Schizochytrium*^b PFO = aceite de pescado protegido**Ejemplo 17. Protocolo con los animales: transporte de nutrientes en pollos**

- 5 Las gallinas se alimentaron con las dietas durante 21 días antes de la recolección de aproximadamente 10 huevos fértiles de cada una de las 3 gallinas/trat., por nidada (un conjunto de 30 huevos por nidada por tratamiento). Tras la eclosión, se sacrificaron aproximadamente cinco pollitos de 3 días de edad de cada gallina para el análisis de la captación de glucosa y glutamina intestinal (15 pollitos/trat.). Se incubaron los huevos a 37,5 °C y un 60,4 % de humedad relativa en una incubadora comercial con volteo automático de los huevos (Jamesway, Modelo nº 252), y el día 19 los huevos se transfirieron a una cesta de eclosión y eclosionaron en la incubadora. Al eclosionar, los pollitos se colocaron en una batería de jaulas precalentadas y se les proveyó con agua y una dieta de inicio de pollos común. Aproximadamente a las 72 horas post-eclosión, los pollitos se sometieron a eutanasia mediante asfixia en CO₂ y se recogieron los segmentos de yeyuno intestinal para la evaluación de la absorción de nutrientes intestinal.
- 10
- 15 **Ejemplo 18. Protocolo con las cámaras Ussing: transporte de nutrientes en pollos**

- 20 Las muestras de yeyuno proximal entre el conducto biliar y el saco vitelino se retiraron y se colocaron en tampón de Krebs-Henseleit (que consiste en mmol/l: 25 de NaHCO₃, 120 de NaCl, 1 de MgSO₄, 6,3 de KCl, 2 de CaCl₂, 0,32 de NaH₂PO₄; pH 7,4) para el transporte de vuelta al laboratorio (< 40 min) con aireación constante hasta fijarlas en las cámaras Ussing. Se montaron inmediatamente dos segmentos de yeyuno por pollito en Cámaras Ussing (DVC 4000 World Precision Instruments, New Haven, CT USA). Cada segmento se bañó por su superficie mucosa y serosa (área de apertura de 1,0 cm²) con 3 ml de solución de Krebs y se gaseó con una mezcla de un 95 % de O₂-5 % CO₂. Los segmentos intestinales se pinzaron con una tensión de cero mV mediante una corriente externa tras la corrección de la resistencia de la solución. Despues de que se estableciera y estabilizara una corriente de cortocircuito (5 a 10 min), se tomaron las mediciones de corriente de cortocircuito básicas utilizando el software MP100A (BioPac Systems Inc., Santa Barbara, CA). El software permitía mediciones en tiempo real de la corriente y de esta manera se monitorizaban constantemente los cambios de corriente. Despues de que el tejido se estabilizara, se desafilaron independientemente con 10 mmol/l de D-glucosa y 10 mmol/l de L-glutamina que se añadieron al tampón seroso, con adición equimolar (10 mmol/l) de manitol en el lado mucoso. Se registró el cambio máximo de corriente y esto se repitió en cuatro días diferentes con un total de diez pollitos por tratamiento.
- 25
- 30

Ejemplo 19. Modulación de ácidos grasos del transporte de nutrientes en pollos

- 35 La Figura 8 muestra la captación de glucosa en pollitos de tres días de gallinas alimentadas con una dieta enriquecida en DHA de algas *Schizochytrium* (alDHA) o aceite de pescado protegido (PFO). El transporte de glucosa intestinal (10 mM) se evaluó mediante una técnica modificada de cámara Ussing como se ha descrito anteriormente.

La Figura 9 muestra la captación de glutamina en pollitos de tres días de gallinas alimentadas con una dieta enriquecida en DHA de algas *Schizochytrium* (alDHA) o aceite de pescado protegido (PFO). El transporte de glucosa intestinal (10 mM) se evaluó mediante una técnica modificada de cámara Ussing.

- 5 Los pollitos eclosionados de gallinas suplementadas con n-3 PUFA y DHA de una fuente de algas (alDHA) o no de
algas (PFO) presentaban una captación de glucosa en el yeyuno significativamente aumentada en comparación con
los pollitos eclosionados de gallinas no suplementadas con n-3 PUFA o DHA ($P < 0,05$) (Fig. 8). La captación activa
de glucosa en los tratamientos con alDHA y PFO eran un 41 % y 37 % mayores que en los pollos alimentados con la
dieta de control, respectivamente. No había diferencia en la captación de glucosa entre alDHA o PFO ($P > 0,50$) (Fig.
10 8). No había diferencia entre los tratamientos para la captación de glutamina ($P > 0,10$) (Fig. 9).

Ejemplo 20. Fórmula ejemplar de PFO

- 15 A continuación, se dan las fórmulas ejemplares de una composición no de algas que comprende ácidos grasos
omega-3 o ésteres de los mismos que se pueden añadir a las composiciones de pienso como se ha descrito en el
presente documento.

GroMega extrusionado Formula nº 1:

Ingrediente	% de producto
Harina de trigo	65,45
Aceite de sábalo atlántico	20,00
Harina de alfalfa	8,80
Melazas secas	5,60
Vitaminas	0,15

Para cerdos 4,53-9,07 kg/tonelada de pienso completo
Relación DHA:EPA 0,75-1:1

GroMega extrusionado Formula nº 2:

Ingrediente	% de producto
Aceite de sábalo atlántico	60
Vehículo de almidón	40
Total	100

Para cerdos 2,27-4,53 kg/tonelada de pienso completo
Relación DHA:EPA 0,75-1:1

Tabla 1. Dieta para cerdas en gestación y lactancia (a base de pienso)

Ingrediente, %	Gestación				Lactancia	
	CON	PFO	alDHA	Coco	CONT	PFO
Maíz	75,69	75,69	75,69	75,69	64,96	64,96
Harina de soja, 48 %	18,66	18,66	18,66	18,66	27,74	27,74
Premezcla	4,65 ¹	4,65 ¹	4,65 ¹	4,65 ¹	6,30 ²	6,30 ²
Almidón de maíz	1,00	-	0,86	-	1,00	0,86
Aceite de pescado protegido (PFO) ³	-	1,00	-	-	1,00	-
DHA de algas (alDHA)	-	-	0,14	-	-	0,14
Grasa seca de coco	-	-	-	1,00	-	-
Total	100	100	100	100	100	100
Contenido de nutrientes calculado, %						
Grasa bruta	3,56	3,78	3,56	4,36	3,45	3,66
Proteína bruta	15,17	15,26	15,17	15,21	19,09	19,13
Almidón	48,86	48,35	48,75	47,87	42,75	42,60
Energía metabolizable, MJ/kg	13,68	13,68	13,72	13,85	13,56	13,51
Lisina	0,75	0,75	0,75	0,75	1,10	1,10
Fósforo	0,77	0,77	0,77	0,77	0,81	0,81
Calcio	0,88	0,88	0,88	0,88	0,91	0,91

¹ La premezcla proporcionaba por kg de dieta: 662 mg de colina como cloruro de colina; 3,35 mg de acetato de retinilo; 0,06 mg de colecalciferol; 66 mg de vitamina E como acetato de alfatocoferol; 1,4 mg de vitamina K como bisulfato de dimetilpirimidinol menadiona; 0,44 mg de biotina; 44 mg de niacina; 24 mg de ácido pantoténico; 7 mg de riboflava; 0,03 mg de vitamina B-12; 1,61 mg de ácido fólico; 0,25 mg de piridoxina como piridoxina HCl; 0,48 mg de tiamina; P, un 0,43 % como fosfato monocálcico; Ca, 0,80 % como carbonato cálcico; Na, un 0,18 % como cloruro sódico; K, 0,25 % como cloruro potásico; Mg, 0,02 % magnesio; Cu, 10 mg como sulfato cuproso; Fe, 125 mg como sulfato de hierro; I, 1,26 como yodato potásico; Mn, 60 mg como sulfato de manganeso; Se, 0,3 mg como selenito sódico; Zn, 125 mg como sulfato de zinc.

² Premezcla proporcionada por kg de dieta: 662 mg de colina como cloruro de colina; 3,35 mg de acetato de retinilo; 0,06 mg de colecalciferol; 66 mg de vitamina E como acetato de alfatocoferol; 1,4 mg de vitamina K como bisulfato de dimetilpirimidinol menadiona; 0,44 mg de biotina; 44 mg de niacina; 24 mg de ácido pantoténico; 7 mg de riboflava; 0,03 mg de vitamina B-12; 1,59 mg de ácido fólico; 0,25 mg de piridoxina como piridoxina HCl; 0,48 mg de tiamina; P, un 0,43 % como fosfato monocálcico; Ca, 1,0 % como carbonato cálcico; Na, un 0,21 % como cloruro sódico; K, 0,37 % como cloruro potásico; Mg, 0,06 % magnesio; Cu, 10 mg como sulfato cúprico; Fe, 136 mg como sulfato de hierro; I, 1,26 como yodato potásico; Mn, 60 mg como sulfato de manganeso; Se, 0,3 mg como selenito sódico; Zn, 125 mg como sulfato de zinc.

³ El aceite de pescado protegido fue suministrado por JBS United, Inc.

Tabla 2. Composición de ácidos grasos de la dieta de lactancia de cerdas

	Dieta			
	CONT	PFO	alDHA	COCO
(g/100 g de ácidos grasos totales)				
6:0	0,00	0,00	0,00	0,06
8:0	0,00	0,00	0,00	1,44
10:0	0,00	0,00	0,00	1,11
12:0	0,00	1,37	1,38	8,97
14:0	0,00	0,47	0,28	3,82
16:0	15,53	15,56	15,22	14,53
16:1	0,00	0,67	0,00	0,00
18:0	3,18	3,20	2,95	3,09
18:1	23,63	21,55	23,19	19,19
18:2(n-6)	54,07	52,36	52,74	44,53
18:3(n-3)	3,02	3,05	2,88	2,69
20:0	0,44	0,41	0,44	0,36
20:1	0,00	0,27	0,00	0,00
20:3(n-6)	0,00	0,00	0,00	0,00
20:5(n-3)	0,00	0,58	0,00	0,00
22:5(n-3)	0,00	0,00	0,00	0,00
22:6(n-3)	0,00	0,51	0,80	0,00
Otros	0,12	0,00	0,12	0,20
Saturados	19,27	21,51	21,20	33,58
Total (n-3)	3,02	4,14	3,68	2,69
Total (n-6)	54,07	52,36	52,74	44,53
(n-6) / (n-3)	17,90	12,6	14,3	16,5

Tabla 3. Perfil de ácidos grasos de la leche de cerda después de la alimentación en gestación y lactancia con las dietas modificadas con ácidos grasos ^{1,2}

	Dieta				SEM
	CONT	PFO	alDHA	COCO	
(g/100 g de ácidos grasos totales)					
10:0	0,24	0,17	0,18	0,28	0,059
12:0	0,27 ^a	0,20 ^a	0,23 ^a	1,30 ^b	0,154
14:0	3,61	2,68	3,14	4,28	0,586
16:0	33,91	27,59	28,59	34,47	3,091
16:1	10,51	7,84	8,83	10,87	2,55
18:0	5,08	5,55	5,49	4,73	0,305
18:1	29,89	39,22	36,69	28,78	4,733
18:2(n-6)	13,39	13,08	13,18	12,26	1,640
18:3(n-3)	0,61	0,57	0,56	0,55	0,053
20:0	0,09	0,06	0,12	0,04	0,061
20:1	0,22	0,42	0,36	0,25	0,144
20:2	0,25	0,42	0,43	0,30	0,101
20:3(n-6)	0,34	0,07	0,10	0,00	0,203
20:4(n-6)	0,50	0,67	0,71	0,82	0,208
20:5(n-3)	0,00	0,07	0,00	0,00	0,040
22:5(n-3)	0,00 ^a	0,27 ^b	0,12 ^{ab}	0,00 ^a	0,069
22:6(n-3)	0,00 ^a	0,24 ^b	0,29 ^b	0,00 ^a	0,035
Otros	1,07	0,88	0,99	1,06	0,149
Saturados	43,31 ^{bc}	36,25 ^a	37,75 ^{ab}	45,11 ^c	3,512
Total (n-3)	0,61 ^a	1,16 ^b	0,97 ^b	0,55 ^a	0,122
Total (n-6)	14,72	14,41	14,60	13,68	1,926
(n-6) / (n-3)	24,1 ^b	12,5 ^a	15,4 ^a	24,9 ^b	1,611

¹ Medias de las muestras de leche recolectadas de 4 cerdas por tratamiento.² Dentro de una fila, se diferencian las medias con superíndices sin una letra común, $P < 0,05$.

Tabla 4. Composición de ácidos grasos de los cerditos en las muestras del músculo *longissimus dorsi* y yeyuno proximal tomadas al destete^{1,2}

Ácido graso	Intestino delgado				Agrupado				Agrupado	
	CONT	PFO	aDHA	COCO	(g/100 g de ácidos grasos totales)					
					CONT	PFO	aDHA	COCO		
10:0	0,00	0,00	0,00	0,00	-	0,00	0,00	0,00	-	
12:0	0,00	0,00	0,00	0,00	-	0,00	0,03	0,00	0,043	
14:0	0,13 ^a	0,28 ^{ab}	0,36 ^b	0,46 ^b	0,067	1,93	1,78	2,13	2,28	
16:0	20,84	20,95	23,15	23,15	33,51 ^c	29,62 ^{ab}	28,86 ^b	31,74 ^{ac}	0,870	
16:1	1,96	1,43	1,80	2,35	0,297	9,07	6,24	7,81	8,66	
18:0	22,32	22,22	23,34	21,64	0,867	10,23	10,25	9,26	10,71	
18:1	13,20	14,10	11,63	13,55	2,088	25,02	27,54	31,86	23,54	
18:2(n-6)	21,78	20,78	21,60	21,18	1,501	15,69	16,47	14,07	16,58	
18:3(n-3)	0,46	0,13	0,07	0,21	0,202	0,25	0,21	0,42	0,24	
20:0	0,55	0,65	0,51	0,47	0,193	0,00	0,00	0,00	-	
20:1	0,00	0,05	0,04	0,00	0,037	0,15	0,25	0,48	0,15	
20:2	0,30	0,38	0,39	0,27	0,100	0,20	0,37	0,51	0,19	
20:3(n-6)	0,67	0,69	0,71	0,66	0,052	0,43	0,34	0,38	0,48	
20:4(n-6)	12,92	11,72	11,60	12,25	0,918	2,67	4,48	2,88	4,36	
20:5(n-3)	0,00 ^a	0,47 ^b	0,18 ^a	0,10 ^a	0,121	0,00	0,03	0,00	0,018	
22:4	1,59	1,15	1,06	1,67	0,207	0,49	0,64	0,46	0,81	
22:5(n-3)	0,92 ^{ab}	1,06 ^{ab}	0,67 ^a	0,78 ^{ab}	0,124	0,23 ^a	0,82 ^b	0,31 ^{ab}	0,07 ^a	
22:6(n-3)	0,90 ^a	2,54 ^b	2,34 ^b	0,65 ^a	0,338	0,00 ³	0,81 ^b	0,54 ^b	0,00 ^a	
Otros	1,47	1,43	0,57	0,63	0,779	0,15	0,10	0,05	0,14	
Saturados	45,26	45,50	47,84	46,14	45,66 ^c	41,73 ^{ab}	40,25 ^a	44,78 ^{bc}	1,162	
(n-3)	2,28	4,19	3,26	1,74	0,48 ^a	1,87 ^b	1,27 ^b	0,3 ^{1a}	0,244	
(n-6)	35,41	33,21	33,99	34,17	18,36	20,98	16,95	20,94	2,661	
(n-6) / (n-3)	15,56	7,93	10,43	19,61	28,11 ^a	11,20 ^b	13,40 ^b	28,07 ^a	4,590	

¹ medias de cuatro cerditos por tratamiento.² dentro de un tejido y fila las medias con superíndices sin una letra común son diferentes. $P < 0,05$.

Tabla 5. Dietas de gestación y lactancia (a base de pienso)

<u>Ingrediente. %</u>	<u>Gestación</u>		<u>Lactancia</u>	
	Control	PFO	Control	PFO
Maíz	75,69	75,69	64,96	64,96
Harina de soja, 48 %	18,66	18,66	27,74	27,74
Premezcla de Vitaminas/minerales/fitasa	4,65	4,65	6,30	6,30
Almidón de maíz	1,00	-	1,00	-
Aceite de pescado protegido (PFO) ^a	-	1,00	-	1,00
Total	100	100	100	100
<u>Contenido de nutrientes calculado, %</u>				
Grasa bruta	3,56	3,78	3,45	3,66
Proteína bruta	15,17	15,26	19,09	19,18
Lisina	0,75	0,75	1,10	1,10
Fósforo	0,77	0,77	0,81	0,81
Calcio	0,88	0,88	0,91	0,91
EPA ^b	-	0,007	-	0,007
DHA ^b	-	0,007	-	0,007
12:0, 14:0 y 16:0 ^b	-	0,013	-	0,013
Total de ácidos grasos n-6	1,58	1,58	1,43	1,43
Total de ácido graso n-3	0,06	0,13	0,07	0,14
Relación de ácidos grasos n-6:n-3	26,70	12,04	20,51	10,11

^a El aceite de pescado protegido fue suministrado por JBS United, Inc.

^b Porcentaje calculado de la grasa total de la dieta

Tabla 6. Mortalidad predestete de camadas criadas por cerdas alimentadas con aceite de pescado protegido (PFO) solo durante la lactancia (control/PFO), solo en la gestación (PFO/Control) o ambas (PFO/PFO)

	Tratamiento (gestación/lactancia)				Significación			
	Control/Control ^a	Control/PFO ^b	PFO/ PFO ^c	PFO/Control ^d	SEM	Gestación	Lactancia	Interacción
Número en la camada	11,3	10,9	11,0	11,0	0,26	0,97	0,41	0,42
Número de destetados	9,1	9,3	9,5	9,9	0,49	0,057	0,76	0,26
Mortalidad (%)	14,9	9,1	11,0	7,3	2,55	0,14	0,58	0,016

* Número de cerdas: superíndices a = 19, b = 16, c = 22 y d = 21 cerdas

§ Suma de los nacidos vivos y los que aún sobreviven

Tabla 7. Perfil de ácidos grasos del ingrediente como aditivo de la dieta: los ácidos grasos se presentan como el porcentaje de ácidos grasos totales. *

Ácido graso	Ingrediente alimentario*		
	FERTILIUM™	alDHA	Coco
C10:0	0,258	0,098	6,702
C12:0 (láurico)	0,117	0,327	51,754
C14:0 (mirístico)	8,662	9,117	19,393
C 16:0 (palmítico)	18,009	23,127	9,625
C16:1n7	11,190	0,048	0,029
C18:0 (esteárico)	3,031	0,545	3,010
C18:1n9	3,067	0,077	0,084
C18:1n7	0,118	0,132	6,816
C18:2n6	4,382	0,031	2,266
C18:3n6	0,270	0,240	
C18:3n3 (α -linolénico)	1,476	0,097	0,090
C20:0	0,182	0,167	0,091
C20:1n9	1,419		0,046
C20:3n6	0,184	0,409	
C20:4n6 (araquidónico)	0,622	2,410	
C20:3	0,242	0,237	
C20:5n3 (EPA)	12,806	1,656	
C22:0	0,134	0,075	0,024
C22:4n6	0,111	0,085	
C22:5n6	0,343	15,736	
C22:5n3 (DPA)	2,185	0,405	0,034
C24:0	0,268		
C22:6n3 (DHA)	12,213	40,940	
Total de ácidos grasos n3	28,680	43,100	0,124
Total de ácidos grasos n6	5,913	18,911	2,266
Total de ácidos grasos saturados	30,527	33,381	87,565
Relación n6:n3	0,21	0,44	21,25

Tabla 8. Dietas experimentales que denotan el balance calculado de ácidos grasos añadidos durante la gestación y la lactancia de la cerda. Cálculos basados en la grasa bruta total y DHA en ambas dietas con PUFA coincidiendo con el contenido en la dieta Fertilium.

	Tratamiento			
	Control	FERTILIUM™	alDHA	Coco
<i>Dieta de gestación</i>				
Grasa bruta (%)	3,56	3,76	3,62	4,36
EPA, como % de grasa en la dieta	-	0,007	0,0005	-
DHA, como % de grasa en la dieta	-	0,007	0,007	-
12:0, 14:0, y 16:0 como %	-	0,013	0,006	0,134
Total del ensayo de grasa en la dieta (%)	0,000	0,266	0,037	0,229
<i>Dieta de lactancia</i>				
Grasa bruta (%)	3,45	3,66	3,52	4,25
EPA, como % de grasa en la dieta	-	0,007	0,0005	-
DHA, como % de grasa en la dieta	-	0,007	0,008	-
12:0, 14:0, y 16:0 como %	-	0,013	0,006	0,144
Total del ensayo de grasa en la dieta (%)	0,000	0,272	0,038	0,236

Tabla 9. Balance aproximado calculado de ácidos grasos de las dietas en la fase de cría. Los ácidos grasos añadidos presentes se basaron en el porcentaje de grasa bruta y el contenido de DHA coincidía en ambos tratamientos con PUFA con los de Fertilium.

	Tratamiento			
	Control	FERTILIUM™	alDHA	Coco
<i>Fase 1</i>				
Grasa bruta (%)	8,41	8,89	8,56	10,76
EPA, como % de grasa en la dieta	-	0,007	0,0005	-
DHA, como % de grasa en la dieta	-	0,007	0,008	-
12:0, 14:0, y 16:0 como %	-	0,013	0,006	0,139
Total del ensayo de grasa en la dieta (%)	0,000	0,272	0,039	0,235
<i>Fase 2</i>				
Grasa bruta (%)	3,46	3,64	3,52	4,22
EPA, como % de grasa en la dieta	-	0,007	0,0005	-
DHA, como % de grasa en la dieta	-	0,007	0,008	-
12:0, 14:0, y 16:0 como %	-	0,013	0,006	0,139
Total del ensayo de grasa en la dieta (%)	0,000	0,272	0,038	0,236
<i>Fase 3</i>				
Grasa bruta (%)	3,46	3,63	3,52	4,22
EPA, como % de grasa en la dieta	-	0,007	0,0005	-
DHA, como % de grasa en la dieta	-	0,007	0,008	-
12:0, 14:0, y 16:0 como %	-	0,013	0,006	0,139
Total del ensayo de grasa en la dieta (%)	0,000	0,272	0,038	0,236
<i>Fase 4</i>				
Grasa bruta (%)	3,54	3,71	3,59	4,31
EPA, como % de grasa en la dieta	-	0,007	0,0005	-
DHA, como % de grasa en la dieta	-	0,007	0,008	-
12:0, 14:0, y 16:0 como %	-	0,013	0,006	0,138
Total del ensayo de grasa en la dieta (%)	0,000	0,274	0,038	0,235

Tabla 10. Balance de ácidos grasos calculado aproximadamente de las dietas en la fase recria-finalización. Los ácidos grasos presentes se basaban en el porcentaje de grasa bruta total y el contenido de DHA coincide para ambos tratamientos con PUFA con el de Fertilium.

	Tratamiento			
	Control	FERTILIUM™	alDHA	Coco
<i>Fase 5 (salida de la cría-45 kg)</i>				
Grasa bruta (%)	3,55	3,73	3,61	4,32
EPA, como % de grasa en la dieta	-	0,007	0,0005	-
DHA, como % de grasa en la dieta	-	0,007	0,008	-
12:0, 14:0, y 16:0 como % de grasa	-	0,013	0,006	0,138
Total del ensayo de grasa en la dieta (%)	0,000	0,272	0,038	0,235
<i>Fase 6 (45-63 kg)</i>				
Grasa bruta (%)	3,59	3,77	3,65	4,38
EPA, como % de grasa en la dieta	-	0,007	0,0005	-
DHA, como % de grasa en la dieta	-	0,007	0,008	-
12:0, 14:0, y 16:0 como % de grasa	-	0,013	0,006	0,138
Total del ensayo de grasa en la dieta (%)	0,000	0,274	0,038	0,236
<i>Fase 7 (63-82 kg)</i>				
Grasa bruta (%)	3,63	3,80	3,68	4,42
EPA, como % de grasa en la dieta	-	0,007	0,0005	-
DHA, como % de grasa en la dieta	-	0,007	0,008	-
12:0, 14:0, y 16:0 como % de grasa	-	0,013	0,006	0,139
Total del ensayo de grasa en la dieta (%)	0,000	0,275	0,038	0,236

(continuación)

	Tratamiento			
	Control	FERTILIUM™	alDHA	Coco
<i>Fase 8 (82-100 kg)</i>				
Grasa bruta (%)	3,68	3,86	3,74	4,48
EPA, como % de grasa en la dieta	-	0,007	0,0005	-
DHA, como % de grasa en la dieta	-	0,007	0,008	-
12:0, 14:0, y 16:0 como % de grasa	-	0,013	0,006	0,139
Total del ensayo de grasa en la dieta (%)	0,000	0,274	0,038	0,236
<i>Fase 9 (> 100 kg)</i>				
Grasa bruta (%)	3,73	3,92	3,79	4,55
EPA, como % de grasa en la dieta	-	0,007	0,0005	-
DHA, como % de grasa en la dieta	-	0,007	0,008	-
12:0, 14:0, y 16:0 como % de grasa	-	0,013	0,006	0,138
Total del ensayo de grasa en la dieta (%)	0,000	0,274	0,038	0,236

Tabla 11. Rendimiento acumulado de los cerdos de ganancia (ADG), ingesta de pienso (ADFI) y conversión del pienso (FG) para cerdos criados por cerdas alimentadas con fuentes diferenciales de ácidos grasos en gestación + lactancia o los lechones post-destete. Las dietas se entrecruzaron en la fase de cría.

Dieta de la cerda X Dieta cría/finalización	Tratamiento alimentario							Significación		
	Control	Fertilium	Fertilium	DHA	DHA	Coco	Coco	SEM	Trt	Rep
	X	X	X	X	X	X	X			
Total acumulado †										
ADG (kg/d)	0,50	0,51	0,51	0,52	0,51	0,52	0,52	0,007	0,28	<0,0001
DFI (kg/d)	1,21	1,23	1,22	1,23	1,22	1,27	1,26	0,019	0,27	<0,0001
F:G	2,43	2,39	2,39	2,37	2,40	2,43	2,44	0,015	0,017	<0,0001

† Señala el periodo entre el destete y el mercado

ADG = ganancia media diaria (kg/d), ADFI = ingesta diaria de pienso (kg/d), F:G = relación de conversión del pienso (pienso respecto a ganancia)

Tabla 12. Efecto de alimentación continua con Fertilium™ en gestación y lactancia sobre el tamaño posterior de la camada y los pesos corporales de los lechones.

Criterios de respuesta	Control	FERTILIUM™	SEM agrupado	valor P de la dieta ¹
Camada posterior				
Cerdas, n ²	336	336	—	—
Nacimientos totales, n	11,7	12,1	0,2	0,146
Nacidos vivos, n	11,1	11,4	0,2	0,197
Peso al nacer, kg/cerdo	1,732	1,728	0,04	0,906
Destete ³				
Lechones destetados, n	9,5	10,0	0,2	0,066
Peso al destete, kg/cerdo	5,511	5,683	0,12	0,026

¹ El efecto principal de la dieta se evaluó frente al error terminal de la dieta x grupo de interacción. El grupo se refiere a una sala de parto de 28 cerdas, la mitad por tratamiento.

² Había un total de 24 grupos de cerdas que tenían información de camada individual.

³ Debido a la adopción cruzada y destete de golpe, los lechones destetados (el total de los 24 grupos con toda la información disponible) se refiere al número total de lechones trasladados a la gradería dividido por el número total de camadas paridas del tratamiento, y el peso de destete (total de los 31 grupos destetados) se refiere al total de kilogramos de cerdo trasladados a la cría divididos por el número total de cerdos trasladados dentro de cada grupo de tratamiento.

Tabla 13. Efecto de alimentación continua con Fertilium™ sobre los pesos corporales de los lechones.

Criterios de respuesta	Control	FERTILIUM™	valor P de la dieta
Cerdas, n	77	88	-
Camada normalizada			
Tamaño de la camada, n	11,6 ± 0,2	11,5 ± 0,1	0,843
Peso de los lechones, kg	1,705	1,705	Covariable
Camada el día 14			
Tamaño de camada, n	10,4 ± 0,1	10,7 ± 0,1	0,130
Peso de lechones, kg	4,381 ± 0,09	4,644 ± 0,086	0,05

¹ Incluyendo el peso de lechones al normalizarse como covariable (medias ajustadas a 1,705 kg para ambos grupos de tratamiento)

Tabla 14. Composición de ácidos grasos de muestras de yeyuno obtenidas de los lechones destetados de madres alimentadas con los regímenes alimentarios de control (Cont) y aceite de pescado protegido durante la gestación y(o) lactancia (G/L).^{1,2}

Ácido graso	Cont/Cont	Cont/PFO	PFO/PFO	PFO/Cont
		(g/100 g)		
14:0	0,06	0,09	0,05	0,10
16:0	19,82	19,31	20,13	21,52
16:1	1,45	1,27	1,24	1,17
18:0	22,14	25,86	23,28	20,03
18:1	13,43	12,31	11,64	14,60
18:2n6	21,65	20,28	20,25	20,05
18:3n6	0,25	0,16	0,24	0,24
18:3n-3	0,32	0,33	0,34	0,37
20:2	0,42	0,24	0,22	0,40
20:3n6	0,63	0,46	0,69	0,51
20:4n6	14,66	12,29	13,61	14,75
20:5n-3	0,18 ^a	0,73 ^b	0,74 ^b	0,25 ^a
22:4	1,82	1,27	1,17	1,94
22:5n-3	1,11 ^a	1,33 ^b	1,38 ^b	1,40 ^b
22:6n-3	0,27 ^a	3,68 ^b	4,51 ^b	2,15 ^c
Otros	1,77	0,39	0,51	0,54
Total	100,00	100,00	100,00	100,00
Saturados	42,69	45,64	43,88	42,19
n-3	2,88 ^a	6,06 ^c	6,97 ^c	4,17 ^b
n6	37,20	33,20	34,79	35,54
n6/n-3	12,91 ^a	5,47 ^b	5,16 ^b	8,81 ^b

¹ Medias de cuatro lechones por tratamiento

² Dentro de las filas, las medias con una letra común se diferencian, P< 0,05.

Tabla 15. Composición de ácidos grasos de muestras del músculo *longissimus dorsi* obtenidas de lechones destetados de madres alimentadas con los regímenes alimentarios de control (Cont) y aceite de pescado protegido (PFO) durante la gestación y(o) lactancia (G/L).^{1,2}

Ácidos grasos	Cont/Cont	Cont/PFO	PFO/PFO	PFO/Cont
14:0	0,25	0,22	0,16	0,51
16:0	21,41	21,23	20,64	20,48
16:1	2,68	2,55	2,44	3,43
18:0	15,77	15,22	14,59	15,82
18:1	13,51	12,92	14,94	17,79
18:2n6	26,92	25,45	23,76	23,46
18:3n6	0,00	0,00	0,08	0,00
18:3n-3	0,39	0,36	0,32	0,39
20:2	0,61	0,59	0,63	0,68
20:3n6	1,05	1,09	0,93	1,02
20:4n6	13,32	12,20	12,43	12,18
20:5n-3	0,34	0,98	3,29	0,30
22:4	2,14	1,55	1,48	1,71
22:5n-3	1,52	1,87	1,83	1,44
22:6n-3	0,00 ^a	1,97 ^b	2,48 ^b	0,70 ^c
Otros	0,09	0,00	0,00	0,10
Total	100,00	100,00	100,00	100,07
Saturados	37,43	38,47	35,39	36,81
n-3	2,25 ^a	5,18 ^{bc}	7,92 ^b	2,84 ^{ac}
n6	41,29	38,74	37,20	36,65
n6/n-3	18,64 ^a	7,55 ^b	5,89 ^b	14,42 ^a

¹ Medias de cuatro lechones por tratamiento.

² dentro de las líneas, las medias sin una letra común son diferentes, P< 0,05

REIVINDICACIONES

1. Un método no terapéutico de aumento del transporte intestinal de nutrientes en las crías de un animal, comprendiendo el método las etapas de
- 5 administración al animal de una composición de pienso que comprende una composición de algas o una composición no de algas que comprende ácidos grasos omega-3 o ésteres de los mismos; y el aumento del transporte intestinal en las crías del animal, donde
- 10 i) la relación de ácido docosahexaenoico respecto al ácido eicosapentaenoico en la composición de algas es aproximadamente de 60:1 a aproximadamente 1:1 y el animal es una cerda gestante, una cerda post-parto, otra especie de animal de producción, un ser humano, o un animal de compañía, o
 ii) la relación de ácido docosahexaenoico respecto al ácido eicosapentaenoico en la composición no de algas es aproximadamente de 30:1 a aproximadamente 1:1 y el animal es una especie de animal de producción distinto de un cerdo, un ser humano, o un animal de compañía;
- 15 donde la composición de pienso como mezcla final comprende aproximadamente un 0,01 % a aproximadamente un 4,0 % por peso de la composición de algas o la composición no de algas.
- 20 2. El método de la reivindicación 1, donde la composición de algas está en forma de algas secas o un aceite derivado de las algas.
- 25 3. El método de la reivindicación 1 o 2 donde los ácidos grasos omega-3 comprenden ácidos grasos omega-3 C₂₂ o ácidos grasos omega-3 C₂₀.
- 30 4. El método de las reivindicaciones 1 a 3 donde la composición de pienso como mezcla final comprende adicionalmente ácidos grasos omega-6 o ésteres de los mismos.
- 35 5. El método de las reivindicaciones 1 a 4 donde la composición de pienso que comprende la composición de algas se administra durante la lactancia o la gestación.
- 40 6. El método de las reivindicaciones 1 a 5 donde la composición de pienso se administra diariamente al animal.
- 45 7. El método de las reivindicaciones 1 a 6 donde la composición de pienso como mezcla final comprende adicionalmente un antioxidante.
- 50 8. El método de las reivindicaciones 1 a 7, donde el animal es de otra especie de animal de producción seleccionado de entre el grupo que consiste en un pollo, un caballo, un pony, una vaca, un pavo, una cabra, una oveja, una codorniz, un faisán, un aveSTRUZ, y un pato.
- 55 9. El método de las reivindicaciones 1 a 7, donde el animal es un animal de compañía seleccionado de entre el grupo que consiste en una especie canina y una especie felina.
- 60 10. El método de las reivindicaciones 1 a 9, donde el aumento de transporte intestinal da como resultado un aumento de unidades de glucógeno muscular o unidades de glicosilo muscular.
- 65 11. El método de las reivindicaciones 1 y 3 a 7, donde el animal es un pollo y las crías son pollitos y la composición de pienso que comprende la composición no de algas también se administra al pollito.
- 70 12. El método de las reivindicaciones 1 a 11, que comprende adicionalmente la etapa de aumentar el rendimiento de crecimiento de las crías del animal.
- 75 13. El método de la reivindicación 12, donde el rendimiento de crecimiento se selecciona de entre el grupo que consiste en un aumento de la tasa de crecimiento de las crías y una disminución de la relación de pienso respecto a ganancia de peso de las crías.

Fig. 1

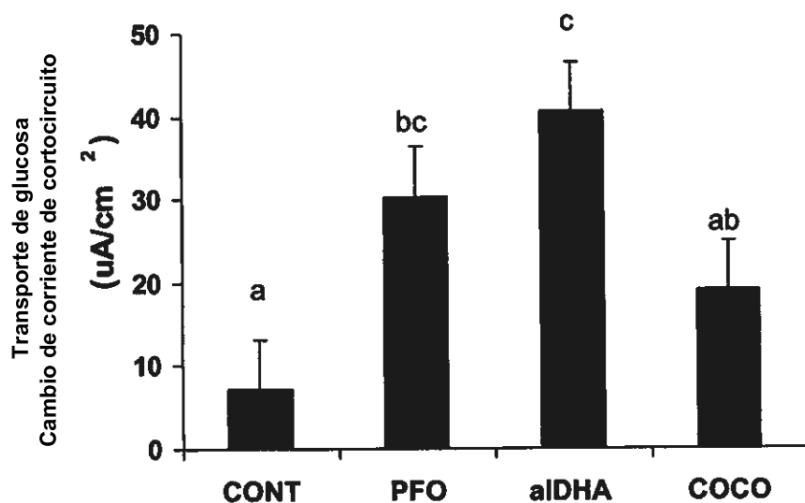
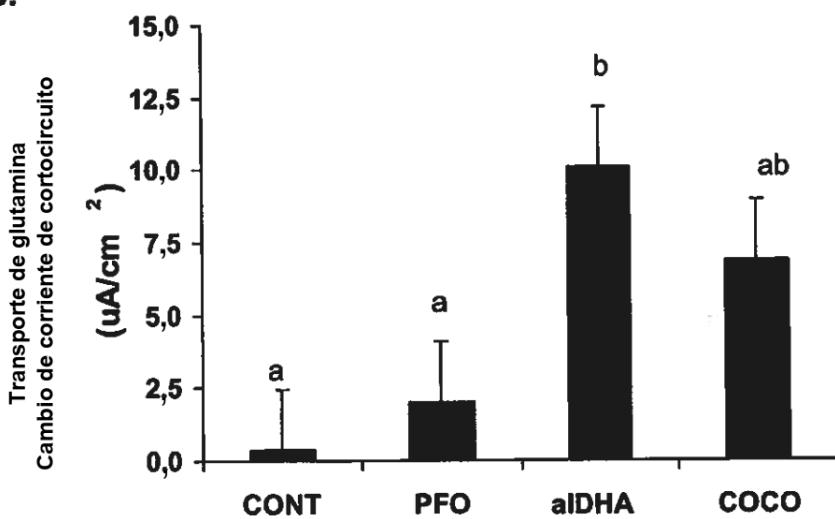
A.**B.**

Fig. 2

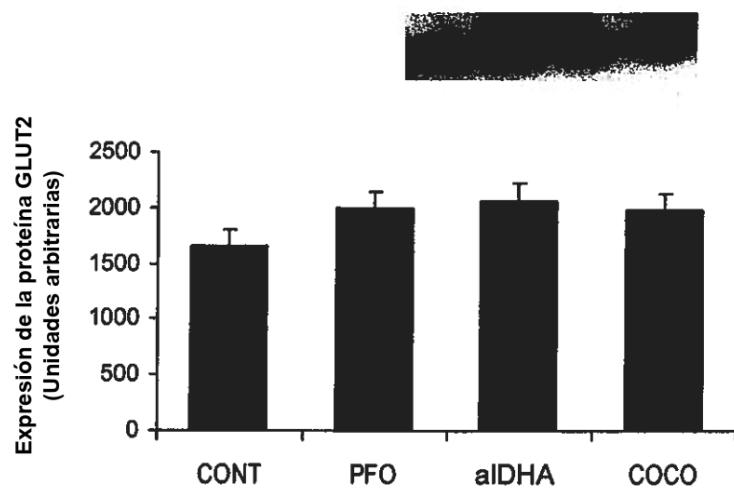


Fig. 3

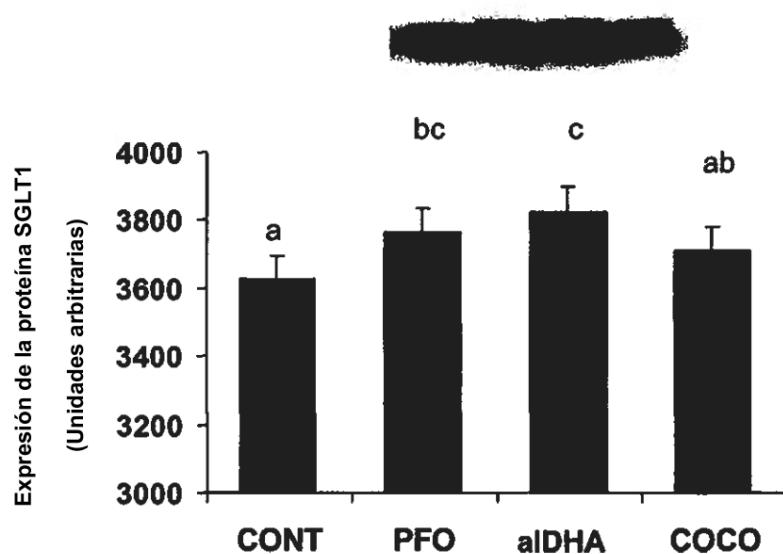


Fig. 4

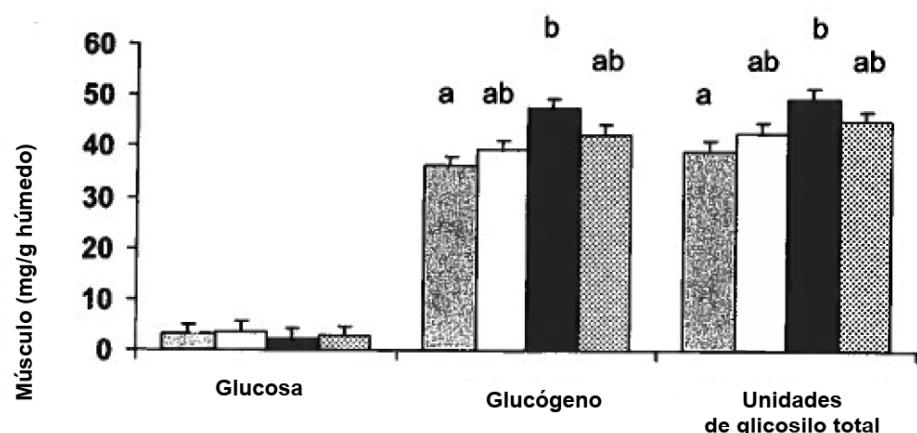
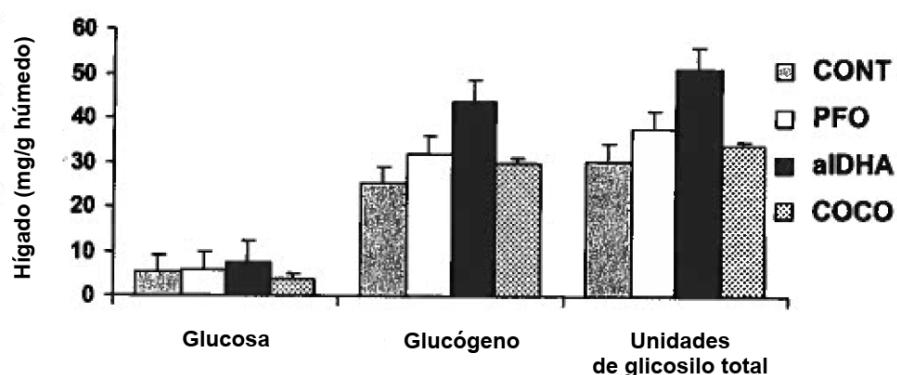
A.**B.**

Fig. 5

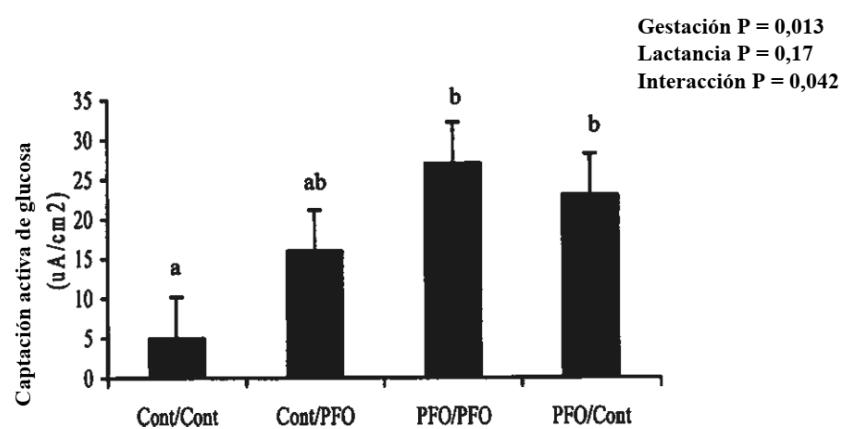


Fig. 6

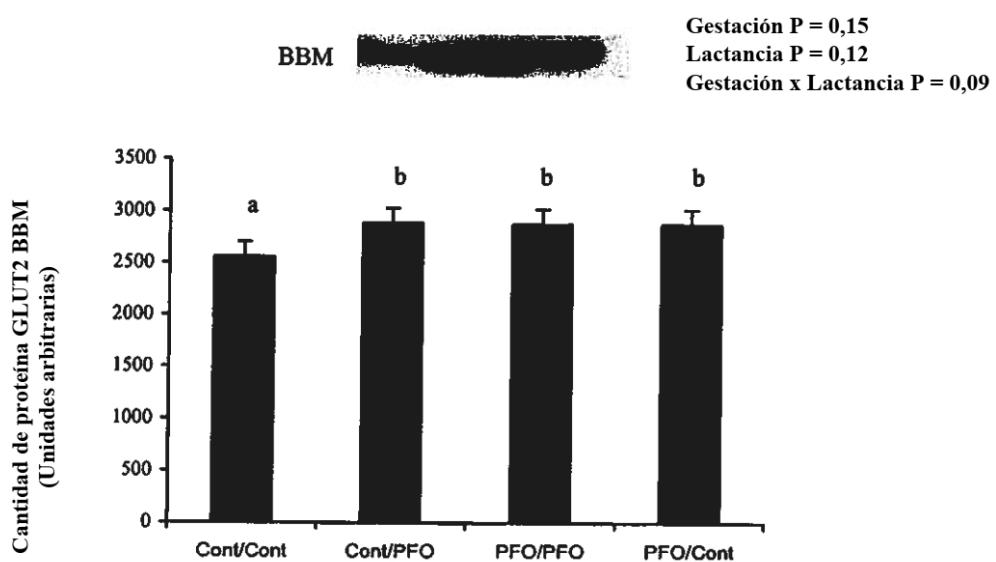
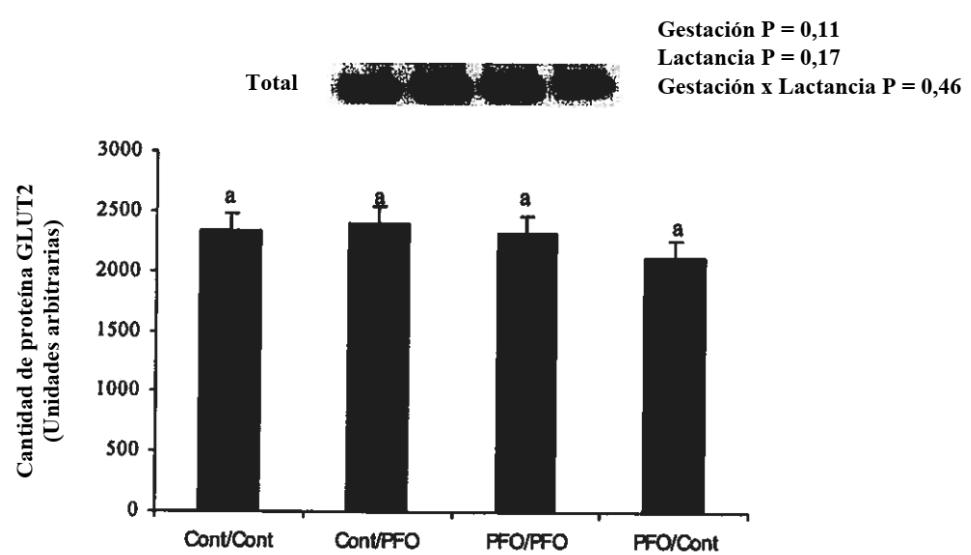
A.**B.**

Fig. 7

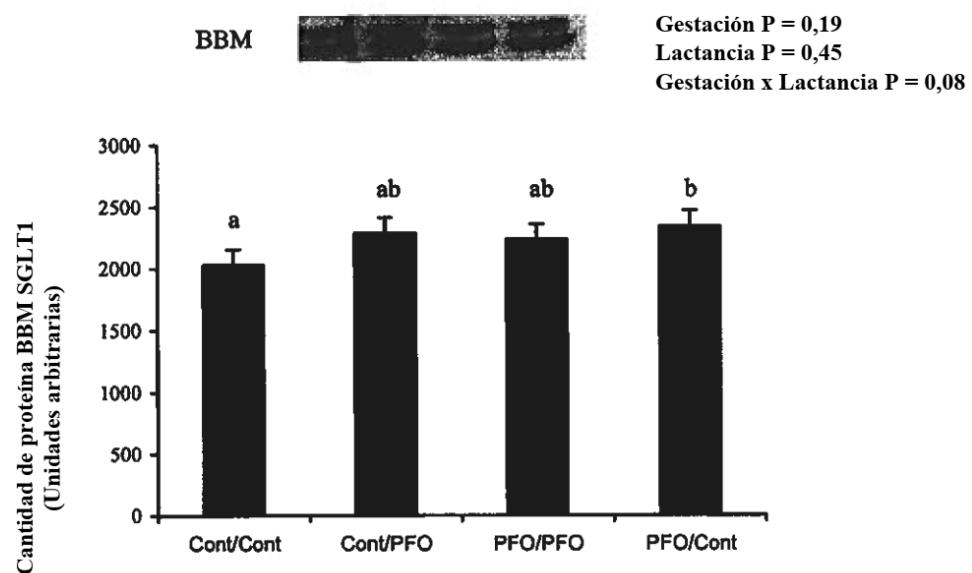
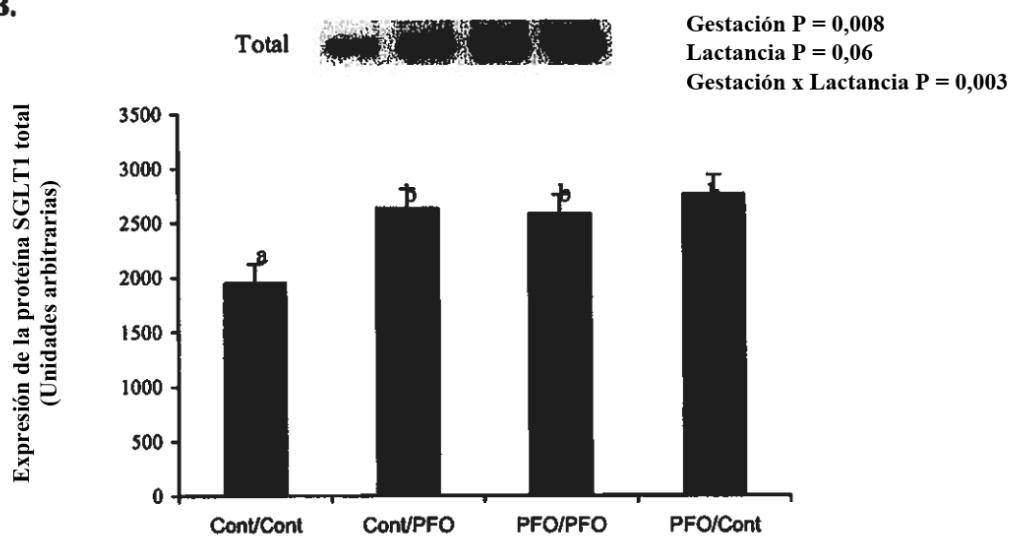
A.**B.**

Fig. 8

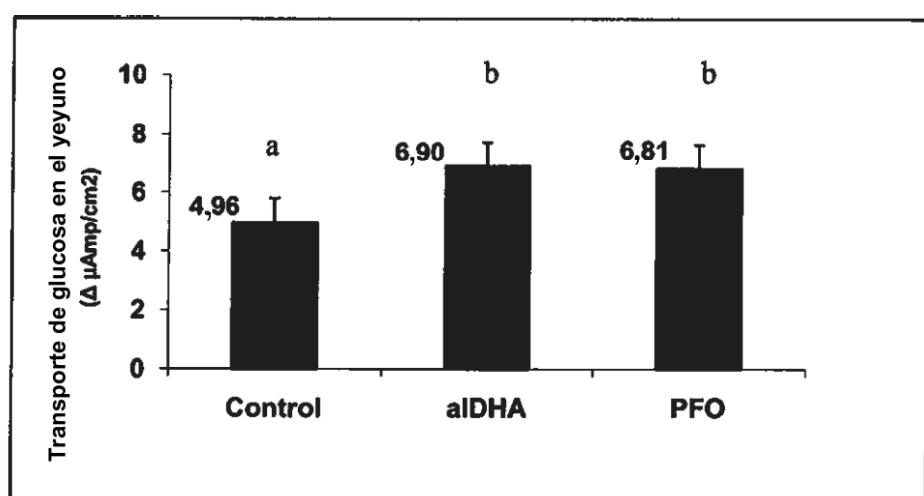


Fig. 9

