

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA
LA MOLINA**

**ESCUELA DE POST GRADO
MAESTRIA EN NUTRICIÓN**



**“RELACIÓN ENTRE HARINA DE YACÓN O ACEITE DE
COPAIBA DIETARIA Y PERFORMANCE E INTEGRIDAD
INTESTINAL DE POLLOS INOCULADOS CON COCCIDIAS”**

Presentado por:

GARDENIA TUPAYACHI SOLÓRZANO

**TESIS PARA OPTAR EL GRADO DE
MAGISTER SCIENTIAE EN NUTRICION**

Lima – Perú

2014

RELACIÓN ENTRE HARINA DE YACÓN O ACEITE DE COPAIBA DIETARIA Y PERFORMANCE E INTEGRIDAD INTESTINAL DE POLLOS INOCULADOS CON COCCIDIAS.

Gardenia Tupayachi Solórzano¹ y Carlos Vilchez Perales²

RESUMEN

El objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto de la relación entre harina de yacón o aceite de copaiba dietaria en la performance e integridad intestinal en pollos inoculados con coccidias. Se emplearon 120 pollos BB de la Línea Cobb 500, machos de un día de edad, distribuidos en cuatro tratamientos, tres repeticiones por tratamiento y 10 animales por repetición. Los tratamientos evaluados fueron: T1, dieta basal (sin coccidiostato); T2 dieta basal + coccidiostato; T3 dieta basal + harina de yacón (0.25%) y T4, dieta basal + aceite de copaiba (0.15 ml/kg). El periodo de evaluación fue de 21 días: Al día 14 todos los animales fueron inoculados experimentalmente con *Eimerias*. Los parámetros productivos de 1-21 días fueron: ganancia de peso, consumo voluntario de alimento, conversión alimenticia. Al final del ensayo se sacrificaron seis animales por tratamiento y se tomaron muestras de intestino delgado para realizar las mediciones de altura de vellosidad, profundidad de cripta, número de células caliciformes y relación altura de vellosidad: profundidad de cripta. Asimismo, se tomaron muestras de heces para hacer el recuento de ooquistes/g de heces. Los resultados mostraron que ninguno de los parámetros productivos evaluados a los 14 días fueron afectados significativamente ($P>0.05$) por los tratamientos dietarios. Por otro lado, la altura de vellosidades en los diferentes segmentos del intestino (duodeno, yeyuno e íleon) no se encontró diferencia estadística entre tratamientos. La profundidad de cripta, los resultados obtenidos indicaron que con el suministro de aceite de copaiba se obtuvo mayor profundidad de cripta ($P<0.05$) en el duodeno. En el íleon se pudo observar que el tratamiento con harina de yacón obtuvo mayor número de las células caliciformes ($P<0.05$) con respecto a los demás tratamientos. En el recuento de ooquistes, no se vio diferencia significativa entre tratamientos ($P>0.05$). En conclusión, a diferencia de la harina de yacón suplementaria la suplementación con aceite de copaiba mostró tener un efecto sobre la regeneración celular a nivel intestinal en pollos infectados experimentalmente con *Eimerias*, mientras que la harina de yacón no tuvo efectos positivos en la renovación celular.

Palabras claves: pollos de carne, coccidias, integridad intestinal, aceite de copaiba, harina de yacón.

**RELATIONSHIP BETWEEN YACON MEAL OR DIETARY COPAIBA OIL
AND PERFORMANCE AND INTESTINAL INTEGRITY OF BROILERS
INOCULATED WITH COCCIDIA.**

SUMMARY

The objective of this study was to evaluate the effect of the relationship between yacon flour or dietary copaiba oil on performance and intestinal integrity in chickens inoculated with coccidian. A total of 120 one-day old male broiler chicks (500 Cobb) were distributed in four treatments, three replicates per treatment and ten animals per replicate. The dietary treatments were: T1, basal diet (no coccidiostat); T2 (basal diet + coccidiostat); T3 (basal diet + yacon flour (0.25%)) and T4 (diet basal + Copaiba oil (0.15 ml / kg)). The evaluation period was 21 days. At day 14 were all the animals were experimentally inoculated with *Eimeria*. Weight gain, voluntary feed intake, feed conversion were weekly determined until the third week. At the end of the trial six animals per treatment were sacrificed and small intestine samples were taken for measurement of villus height, crypt depth, number of caliciform cells and villus height: crypt depth ratio. Furthermore, stool samples were taken for counting of oocysts / g of feces. The results showed that none of the production parameters evaluated at 14 days were significantly affected ($P > 0.05$) by dietary treatments. On the other hand, as to the height of villi in different segments of the intestine (duodenum, jejunum and ileum) no statistical difference was found between treatments. As for the depth of crypt, the results indicated that the supply of oil copaiba greater crypt depth ($P < 0.05$) in the duodenum was obtained. In the ileum was observed that treatment with yacon flour scored higher number of caliciform cells ($P < 0.05$) compared to the other treatments. On the other hand, regarding the oocyst count did not show significant difference between treatments ($P > 0.05$). In conclusion, unlike the supplementation with yacon flour, supplementation with copaiba oil showed to have an effect on cellular regeneration in the intestine in chickens experimentally infected with *Eimeria*.

Keywords: broilers, coccidia, intestinal integrity, copaiba oil, yacon flour.

INDICE

Pág.

Acta de Sustentación

Dedicatoria

Agradecimiento

Resumen

Summary

I	INTRODUCCION	1
II	REVISION DE LITERATURA	3
	2.1 Coccidiosis	3
	2.1.1 Interacción de la Coccidiosis y la nutrición	6
	2.1.2 Interacción de la Coccidiosis y la inmunidad	7
	2.2 Vacunas anticoccidiales y antibióticos	8
	2.2.1 Efecto de los Antibióticos	9
	2.3 Prebiótico	11
	2.3.1 Los fructooligosacáridos	12
	2.4 Yacón	13
	2.4.1 Generalidades	13
	2.4.2 Composición química y propiedades	14
	2.4.3 Efecto de fructooligosacáridos en la salud animal	16
	2.4.3.1 Efecto de la harina de yacón en animales	16
	2.5 Aceite de copaiba	18

2.5.1 Terpenos	22
2.5.2 Efecto del aceite de copaiba en animales	23
2.6 Importancia de la integridad intestinal	24
III MATERIALES Y METODOS	26
3.1 Lugar de ejecución	26
3.2 Animales experimentales	26
3.3 Instalaciones y equipos	26
3.4 Actividades especiales	27
3.5 Modelo de desafío coccidial	27
3.6 Tratamientos	28
3.7 Alimentación	28
3.8 Mediciones de los parámetros productivos	33
3.9 Protocolo para el muestreo intestinal	33
3.10 Mediciones morfométricas	36
3.11 Diseño experimental	37
IV RESULTADOS Y DISCUSION	38
V CONCLUSIONES	48
VI RECOMENDACIONES	49
VII REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	50
VIII ANEXOS	61

INDICE DE CUADROS

		Págs
Cuadro 1	Contenido de azúcares en raíces tuberosas de yacón	15
Cuadro 2	Composición química promedio de 10 entradas de yacón procedentes del Perú, Bolivia, Ecuador y Argentina (en relación a 1 Kg de materia comestible de raíz fresca).	16
Cuadro 3	Actividad biológica en diferentes especies de oleorresina de <i>Copaifera</i> .	20
Cuadro 4	Clasificación de isoprenoides o terpenos	22
Cuadro 5	Características de la dieta sin coccidiostato	29
Cuadro 6	Características de la dieta con coccidial.	30
Cuadro 7	Características de la dieta con harina de yacón al 0.25% por kg. de alimento	31
Cuadro 8	Características de la dieta con 0.15 ml de aceite de copaiba por kg. de alimento.	32
Cuadro 9	Respuesta productiva de pollos de carne alimentados con las dietas experimentales (1 a 14 días de edad)	40
Cuadro 10	Respuesta productiva de pollos de carne alimentados con las dietas experimentales (15 a 21 días de edad)	42
Cuadro 11	Número de ooquistes en heces de pollos de carne infectados experimentalmente con <i>Eimerias</i> al 14vo día de edad	44
Cuadro 12	Morfometría de los diferentes segmentos del intestino delgado (duodeno, yeyuno e íleon) en pollos infectados experimentalmente con <i>Eimerias</i> al 14vo día de edad.	45

INDICE DE FIGURAS

		Pág.
Figura 1	Ciclo de vida de las <i>Eimerias</i>	5
Figura 2	Estructura de los Fructooligosacaridos	13

INDICE DE ANEXOS

		Pág.
Anexo I	Peso semanales de pollos (g)	62
Anexo II	Consumo de alimento semanal (g).	63
Anexo III	Ganancia de peso (g).	64
Anexo IV	Conversión alimenticia	65
Anexo V	Medidas a nivel del duodeno	66
Anexo VI	Medidas a nivel del yeyuno	67
Anexo VII	Medidas a nivel del íleon	68
Anexo VIII	Ooquiste excretados por gramo de heces	69
Anexo IX	Inoculo de coccidia	70
Anexo X	Heces con descamaciones de la mucosa intestinal al segundo día de inoculación con <i>Eimerias</i> .	71
Anexo XI	Lesiones intestinales en pollos inoculados con <i>Eimeria</i> (T1)	72
Anexo XII	Lesiones intestinales en pollos inoculados con <i>Eimeria</i> (T2)	73
Anexo XIII	Lesiones intestinales en pollos inoculados con <i>Eimeria</i> (T3)	74
Anexo XIV	Lesiones intestinales en pollos inoculados con <i>Eimeria</i> (T4)	75

I INTRODUCCION

La Coccidiosis es una enfermedad causada por un protozoo del genero *Eimeria* y es una de las principales causas de las pérdidas económicas en la avicultura. La incidencia crónica de esta enfermedad produce retardo del crecimiento, pobre conversión alimenticia y alta morbilidad, además de pérdidas directas por mortalidad en los diversos sistemas de producción avícola. Para contrarrestar un cuadro de Coccidiosis es necesaria la administración de anticoccidial que permita controlar los síntomas de la enfermedad, pero el uso excesivo de estos fármacos provoca un incremento de la resistencia de los microorganismos, con un posible traspaso de éstas a patógenos humanos. Ante esta situación, varios países en el mundo prohíben el uso de ciertos fármacos – entre ellos los anticoccidiales - usados en producción animal y es probable que nuestro país llegue a tomar una decisión en esa dirección para salvaguardar la salud del consumidor.

En la literatura actual existen reportes indicando que el uso de ciertos productos naturales como los prebióticos y aceites esenciales tienen propiedades particulares de mejorar la salud intestinal disminuyendo (efecto antimicrobiano) la carga microbiana existente en el tracto gastrointestinal intestinal cumpliendo así un efecto promotor de crecimiento similar a los obtenidos con los antibióticos promotores de crecimiento tradicionales. Existen datos de investigación que muestran que el uso de harina de yacón (prebiótico) y aceite de copaiba (aceite natural) cumplen efectos benéficos en el tracto intestinal favoreciendo el crecimiento de la vellosidad intestinal y a través de su actividad antimicrobiana, respectivamente. Sin embargo, no existe información sobre sus efectos en casos de cuadros de coccidiosis.

En base a lo establecido, el objetivo del presente trabajo es determinar la relación entre la harina de yacón o aceite de copaiba dietaria y performance e integridad intestinal de pollos inoculados con coccidias.

II REVISION DE LITERATURA

2.1 Coccidiosis

La coccidiosis es una enfermedad que sigue de permanente actualidad. Aunque cada día son más numerosos y eficaces los elementos con los que contamos para su control, las pérdidas que ocasiona en las explotaciones de pollos de carne, de recría de pollitas en suelo y en reproducción, son muy importantes.

La masificación del manejo en la avicultura moderna, la incidencia de enfermedades que producen inmunodepresión, la realización de manejos incorrectos en las instalaciones y los errores en la alimentación, pueden hacer fracasar las medidas de prevención que se aplican y que la coccidiosis ocasione graves problemas patológicos y económicos (Tovar, 1996). Asimismo, la distribución de la coccidiosis es universal. Donde se crían aves hay ooquistes de *Eimerias* patógenos y pueden ocasionar un brote de la enfermedad producido por una o varias especies. La presentación varía desde una enfermedad aguda con numerosas bajas e importantes pérdidas económicas, a brotes subclínicos difícilmente diagnosticables si no se hace un análisis metódico.

La coccidiosis aviar es una enfermedad intestinal compleja causado por parásitos protozoarios obligatorios pertenecientes al género *Eimeria*. Según estimaciones, la coccidiosis puede costar \$127 millones de dólares al año en E.E.U.U. esta pérdida es proporcional en otras partes del mundo (Abbas, 2012). Los efectos económicos son dramáticos ya que además de producir

severas lesiones en los intestinos y retardo en el desarrollo y peso de las aves, puede llegar a matar la totalidad de los animales de un plantel (Alcaíno, 2002). Así también, se ha visto que cuando las aves son infectadas por estos parásitos, es dañada su habilidad para la absorción de nutrientes, resultando en un retraso en la performance, afectando la eficiencia de conversión alimenticia, hay una pobre uniformidad de las aves, se deprime la inmunidad y algunas veces aumenta la mortalidad (Kamil, 2012).

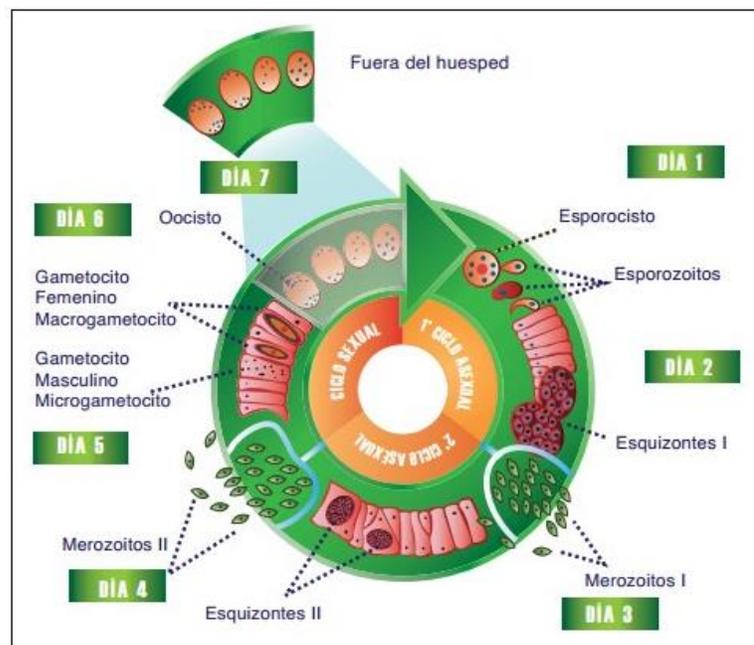
Actualmente se conocen ocho especies de *Eimeria* capaces de infectar pollos de carne, las cuales afectan porciones específicas del tracto intestinal siendo las más comunes: *E. acervulina*, *E. máxima* y *E. tenella*, que afectan el duodeno, yeyuno y ciego respectivamente (Danforth y Ruff, 1999), siendo que un cuadro provocado por la infección de coccidias tiene un efecto sobre las células intestinales, observándose una baja pigmentación de los tarsos, seguida de una reducción de peso y aumento de conversión; esta situación se agrava más cuando el nivel de proteína en la dieta es mayor (Pomiano, 2000), puesto que habrá una mayor producción de tripsina, la que a su vez es requerida para la ruptura de los oocistos esporulados y provoca por tanto una mayor infección y proliferación del parásito (Urquhart, 2001), es así también que las aves infectadas muestran un tránsito lento del bolo alimenticio a lo largo del tubo digestivo, debido a que los enterocitos se encuentran involucrados en un proceso inflamatorio severo, responsable de la pérdida de función observada aquí como atonía muscular del tejido intestinal, lo cual quizá contribuye a aumentar la infección por las fases intermedias de *Eimeria* (Juárez, 2007).

Por otro lado, en cuanto al pH del contenido intestinal, esta disminuye en aves infectadas con *E. mivati*, *E. maxima*, *E. necatrix*, esto se vio a los 5-9 días después de la inoculación. Los efectos sobre la magnitud y la frecuencia de la disminución del pH fueron como sigue: *E. mivati*, se vio un efecto marcada en el duodeno y yeyuno, variable en el íleon; *E. máxima*, ligero en el duodeno, variable en el yeyuno e íleon, *E. necatrix*, no se vio cambio alguno en el duodeno, variable en el yeyuno e íleon. La infección con *E. tenella* no cambio el pH intestinal. El pH de la molleja ocasionalmente fue mayor en las aves infectadas con *E. mivati* o *E.*

Necatrix que en las aves control sin inocular (Pomiano, 2000). También se puede ver en condiciones de campo, que la coccidia puede desempeñar un papel significativo en la aparición de enteritis necrótica cuando un número suficiente de cepa toxigénica de *C. perfringens* de tipo A está presente.

Así también se ha demostrado que la cama húmeda y apelmazada puede estar asociada a un incremento en la cantidad de ooquistes esporulados, y que cuando los niveles de humedad en este material llegan al 25% o más se intensifica el reto coccidial (Alcaíno *et al.*, 2002). Los ooquistes ingeridos son triturados en la molleja y los esporozoitos son liberados en el intestino delgado por acción de las enzimas. Como consecuencia, los esporozoitos entran en las células epiteliales donde comienzan su desarrollo, liberando cantidades masivas de esquizontes que finalmente son liberados como merozoitos. La liberación de los merozoitos provoca la rotura celular y causa daños importantes en el tejido epitelial del intestino (Suhair *et al.*, 2013), así como se puede apreciar en la Figura 1.

Figura 1. Ciclo de vida de las *Eimerias*:



2.1.1 Interacción de la Coccidiosis y la nutrición

La composición nutritiva de la dieta tiene un efecto considerable. Estudios realizados por varios autores han demostrado que hay menos infección coccidial en las aves con dietas de baja concentración en proteínas, aparentemente por el estímulo a un menor desprendimiento de tripsina, que a su vez reduce el desprendimiento de los esporozoitos.

La absorción de nutrientes es alterada durante la coccidiosis. Observándose una disminución en la absorción de la glucosa, el ácido oleico, las grasas, varios aminoácidos, el calcio, zinc y xantofilas, señalando que la mala absorción es generalmente más severa durante la etapa aguda de la infestación hasta 8 a 9 días después de la inoculación luego disminuye, pero en algunas especies persiste por tres semanas. Así mismo, ciertas especies tienen mayor efecto que otras sobre los nutrientes que se absorben solo en áreas específicas del intestino. Concluyendo que en general, a mayor severidad de la infestación, mayor será el efecto sobre la absorción de los nutrientes (Girgis, 2007). En el caso de la infestación de *E. acervulina* produce un incremento en el tejido de ciertos elementos minerales trazas tales como el cobre, cadmio, hierro, manganeso y zinc, llegando a algunos casos a la toxicidad. Con esta especie, la vellosidad intestinal es bloqueada y presenta una necrosis extensiva que reduce la superficie total de absorción. En algunos casos, no son visibles las lesiones intestinales; sin embargo, la célula de la vellosidad intestinal puede estar infestada (Patra, 2010).

La coccidiosis puede afectar el almacenamiento de otros nutrientes, en el organismo del hospedero, así por ejemplo en el hígado se ven reducidas las reservas de glucógeno en presencia de infestaciones con *E. acervulina* y *E. tenella*, durante la etapa aguda (Jordan, 2011). Es así que, la *E. acervulina*, puede afectar significativamente el metabolismo de ciertos tejidos como las mitocondrias, donde según mediciones de la concentración del anhídrido carbónico en el músculo cardíaco fue 16 veces mayor que en aves controles no inoculadas. Por lo que la coccidiosis puede restringir la habilidad del pollo de usar los nutrientes produciendo así una variedad de desórdenes nutricionales. Se ha visto que la eficiencia de la utilización de

la energía bajó del 75% al 45% durante una infestación de *E. acervulina*. Esto significa que la coccidiosis también puede producir cambios en el metabolismo, la composición de los tejidos y las necesidades de nutrientes, los cuales impactan adversamente en la producción avícola, resultando en una pobre conversión alimenticia, es decir, que el pollo necesitara consumir más alimento para ganar más peso (Pomiano, 2000).

Desde el punto de vista nutricional algunos coccidiostatos pueden causar incremento en las exigencias de nutrientes. Por ejemplo, la sulfaquinoxalina a niveles terapéuticos puede aumentar los requerimientos de la vitamina K hasta 10 veces (Rojas, 1979).

2.1.2 Interacción de la Coccidiosis y la inmunidad

El desarrollo de la inmunidad dependerá de factores tales como el uso de la dosis de la droga, el nivel de infestación en el campo, y de la especie de *Eimerias*. Callender (1973) reportaron que aves alimentadas con una fuente suplementaria como la monensina permanecieron susceptibles a la *E. tenelle* y *E. necatrix* a pesar de los desafíos del sistema de infección o de la dosis de monensina.

En crianzas realizadas en el piso, las aves adquieren suficiente infección para protegerse contra los efectos clínicos de una infestación. La duración de la inmunidad en ausencia completa de reinfección es relativamente breve, según sea la especie de *Eimeria*, probablemente de 4 a 6 semanas. La duración de la inmunidad podría ser mayor cuando las aves adquieren infestaciones pequeñas en un periodo de varias semanas (Dauguschies *et al.* (2002)). Además, la inmunidad es específica para la especie que ha sido producida, es decir que si un ave es inmune a *Eimeria tenella*, será completamente susceptible a *Eimeria acervulina*. No existiendo la protección cruzada (Kamil *et al.*, 2012).

Con el coccidiostato, las aves en realidad no reciben una inmunidad en el sentido real de la palabra, lo que se obtiene es una prevención, lo cual significa que deben tener una constante exposición de bajo grado para que sean protegidas (Kamil *et al.*, 2012). Hay que tener en cuenta que, en caso de hacer uso de vacunas coccidiales, estas pueden causar lesiones en la mucosa intestinal, esto debido a que los oocitos se multiplican en la mucosa y el ave tiene que desarrollar una inmunidad natural contra las *Eimerias*, adquiriéndose una inmunidad mediada por células, que es el último nivel de defensa del organismo, este reconoce a los patógenos externos, los destruye y desarrolla una memoria de este encuentro, de manera que si el animal vuelve a encontrarse con el mismo organismo una segunda vez, la inmunidad adquirida responde más rápidamente y de forma más eficaz (Tizard, 2009).

2.2 Vacunas anticoccidiales y antibióticos

La prevención se realiza por medicación preventiva adicionando anticoccidiales a la ración o mediante vacunas. Las vacunas son muy usadas en aves reproductoras y ponedoras aplicándose vacunas en base a organismos vivos patógenos o atenuados (Danforth, 1999). Para pollos de carne generalmente se emplean anticoccidiales en el alimento y se recomienda que estos tengan un amplio rango de acción, ya que en pollos de engorde el efecto de las vacunas puede afectar la inmunidad y el rendimiento de la parvada, siendo que los principales motivos para limitar el uso de vacunas es que la eficiencia alimentaria y la pigmentación no siempre son iguales a las observadas en pollos medicados preventivamente (Juárez, 2007).

Según lo reportado por Juárez, 2007, observo lesiones más severas cuando a un grupo de pollos se les vacuno y luego se les desafió con *E. tenella*, esto probablemente se deba a que después de la vacuna los animales muestran inmunidad marginal, esto favorece la mayor cantidad de ooquistes excretados o incluso mayor severidad de lesiones por parte de alguna especie de *Eimeria*, que la observada en un grupo no inmunizado y que fue desafiado con la misma cantidad de ooquistes. Sin embargo, es necesario recordar que una vacuna que

contenga solo algunas de estas especies no ofrecerá protección contra las especies de *Eimerias* no inoculadas en ella y los brotes producidos por estas podrían eventualmente ser atribuidas a “fallas vacunales”. Esto puede ser de importancia práctica ya que la mayoría de los planteles industriales tienen infecciones mixtas (Alcaíno *et al.*, 2002).

El objeto de una crianza comercial es conseguir el máximo crecimiento y eficiencia con lo mínimo de enfermedad para lo cual existen gran número de drogas anticoccidiales que han sido desarrolladas desde 1940. Estos fármacos anticoccidiales juegan un rol importante en el control efectivo de la coccidiosis aviar (Abbas, 2012). Sin embargo un problema que se afronta constantemente es la aparición de resistencia, consecuencia de la exposición repetida del coccidio al mismo producto. Por este motivo los laboratorios comerciales invierten mucho dinero tratando de desarrollar nuevos productos. Sin embargo, dentro de la gran variedad de productos para el control de coccidias, tenemos los anticoccidiales químicos sintéticos y los antibióticos ionóforos, los cuales pueden ser utilizados en programas continuos o duales (Peers *et al.*, 1994). Ambas clases de productos tienen beneficios y debilidades en los programas contra las coccidias.

2.2.1 Efecto de los Antibióticos

En el caso de aves criadas para la producción, los fármacos anticoccidiales son frecuentemente incluidos en la alimentación para el mantenimiento de las aves, y esto asegura que pocos parásitos escapen a los efectos de los medicamentos. Esta práctica ha resultado en el desarrollo de la resistencia (Abbas *et al.*, 2011).

En animales, al igual como sucede con los humanos, el uso de antimicrobianos no solo causa un incremento en la resistencia de bacterias patógenicas, sino también en la flora endógena de estos animales. Las bacterias resistentes de los animales, ya sean bacterias zoonóticas o flora intestinal, pueden infectar o alcanzar a la población humana no solo por contacto directo, sino

también por productos alimenticios de origen animal. Estas bacterias resistentes pueden colonizar en los humanos y/o transferir sus genes de resistencia a otras bacterias pertenecientes a la flora endógena humana. Además, a mayor número de bacterias resistentes en la flora intestinal, se incrementa la probabilidad de que los genes que codifiquen la resistencia sean transferidos a bacterias potencialmente patogénicas y que sean diseminadas en el ambiente y de pasar de los animales hacia los productos y subproductos animales (Van de Bogaard y Stobberingh, 2000).

Debido a esta evidencia la organización mundial de la salud (OMS) publicó un reporte sobre el impacto del uso de antimicrobianos en la alimentación animal, sugiriendo a los gobiernos la supervisión del uso de antimicrobial y su resistencia (Dibner, 2005). Si no se desarrolla ningún producto alternativo, este movimiento podría llevar a un aumento en la incidencia de enfermedades entéricas con un efecto adverso en el bienestar animal y la producción.

Las últimas investigaciones en nutrición animal indican que existen oportunidades para prevenir los desórdenes entéricos mediante dietas funcionales. Basándose en un conocimiento profundo de la interacción entre nutrición y salud, pueden formularse dietas que puedan prevenir eficazmente las enfermedades entéricas o aliviar los efectos adversos de las infecciones. Así pues, Abbas *et al.* (2012) indican que, durante la última década varias investigaciones científicas han demostrado la eficiencia de productos derivados de plantas como agentes antibióticos. Los extractos y aceites esenciales de algunas hierbas han mostrado resultados prometedores en el control de infecciones por *Eimerias*; en el caso de heces sanguinolentas, tasa de supervivencia, calificación de lesiones, número de ooquistes, y la eficiente producción de los pollos de carne indican que la mezcla de estos componentes fitobióticos podría ejercer una acción anticoccidial contra la infección por *Eimerias*.

2.3 Prebiótico

Un prebiótico es un ingrediente fermentado selectivamente que permite cambios específicos, en la composición y/o actividad en la microflora gastrointestinal que confiere beneficio de bienestar y salud al consumidor. Según Gibson y Roberfroid, (1995) los fructooligosacaridos (FOS) y la inulina, se definen como ingredientes alimenticios “no digeribles que tienen efectos beneficiosos en la salud mediante la estimulación selectiva de crecimiento y/o actividad de una o un número limitado de bacterias en el colon. Siendo que los lactobacilos y bifidobacterias se encuentran entre las bacterias intestinales estimuladas por prebióticos y algunas cepas de estas bacterias se han añadido a los alimentos probióticos como cultivos.

En una revisión realizada por Wang y Gibson, (1993) mencionan que la capacidad de los prebióticos a soportar las condiciones de procesamiento de alimentos permite a estos carbohidratos alcanzar el colon intacto, lo que resulta en enriquecimiento selectivo de bacterias del colon por la prestación de estas bacterias con una ventaja competitiva. Por tanto, los prebióticos solos o en combinación con las bacterias probióticas en forma de simbióticos son reconocidos por tener la capacidad de influir y mejorar la salud gastrointestinal de los seres humanos (Tuohy *et al.*, 2003). Los oligofruetosacaridos pueden clasificarse como carbohidratos altamente fermentables (Tungland y Meyer, 2002).

De acuerdo a Salminen *et al.* (1998) y Gibson (1995), cualquier ingrediente alimenticio considerado prebiótico debe tener las siguientes características:

- No digerible y no absorbible en la parte superior del tracto gastrointestinal (GIT).
- Fermentable por la microflora del colon del GIT.
- Estimulante selectivo de la microflora conocida como probiótico del intestino grueso.
 - Alterante de la microflora colónica hacia una composición saludable por incremento del número de especies de las bifidobacterias y reducción de microorganismos putrefactos por ejemplo *Clostridium* y *Enterobacteriaceae*.

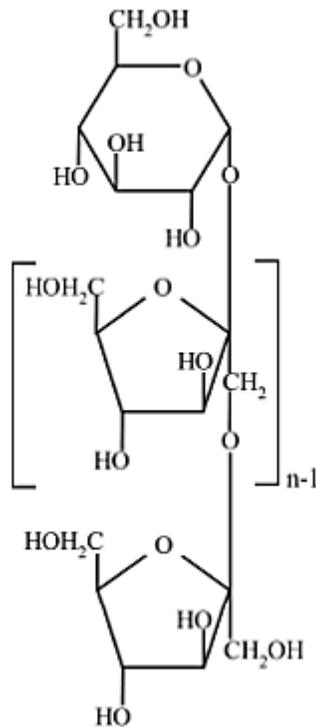
En una investigación realizada por Roland *et al.*, (1995) encontraron que la inulina y la oligofruktosa son completamente fermentados en el colon. La fermentación de estos carbohidratos por la microflora anaeróbica del colon produce gases (CO_2 , H_2 , CH_4), ácidos orgánicos, como ácido láctico y ácidos grasos de cadena corta, donde la producción de butirato se encuentra en una proporción de un radio molar de 27% a diferencia de un 10% del producido por otras fibras.

2.3.1 Los fructooligosacáridos

Corresponden a carbohidratos complejos los cuales están formados por una a tres unidades de fructosa unidas por la posición β (2 \rightarrow 1) a la sacarosa, como se muestra en la Figura 2. Según Hayashi (1991) estos compuestos son de interés por sus favorables propiedades funcionales tales como edulcorantes no calóricos y no criogénicos, mejoradores de la microflora intestinal del hombre y los mamíferos, así como también reductores del colesterol total y lípidos en suero. Según Coussement (1999) el termino oligofruktano fue introducido como un sinónimo de fructooligosacárido en 1989 con propósitos de etiquetar.

Los fructooligosacáridos (FOS) presentan una proporción energética más baja que el azúcar y los almidones. Roberfroid *et al.* (1993) realizaron cálculos predictivos teóricos concluyendo que el contenido energético de la inulina esta entre 4.6 y 9.5 KJ/g y los carbohidratos normales digeribles tienen una densidad energética 17KJ/g. Debido a la configuración β del C_2 anomérico en sus monómeros de fructosa se forman los enlaces glucosídicos β (2 \rightarrow 1) que le confieren la propiedad a estos compuestos de ser resistentes a las enzimas digestivas que son específicas para los enlaces α . Estos carbohidratos son también clasificados como no digeribles por estudios realizados *in vivo* e *in vitro* (Molis *et al.*, 1996; Elegar *et al.*, 1997; Knudsen y Hessov, 1995) pudiendo ser fermentados selectivamente por muchas bifidobacterias y lactobacilos (Pedreschi *et al.*, 2003).

Figura 2: Estructura de los fructooligosacáridos



n= número de unidades de fructosa (inulina, n=2-60; oligofructosa, n=2-20).

2.4 Yacón

2.4.1 Generalidades

El yacón es una planta de varias regiones de América, donde crece en las alturas de los valles interandino; aunque su cultivo se ha extendido en varios lugares del mundo en altitudes menores. (Álvarez *et al.*, 2008).

Asami *et al.*, (1991) mencionan que la planta de yacón produce raíces subterráneas suculentas que son ricos en fructosa, glucosa, sacarosa, de bajo grado de polimerización (DP) como oligosacáridos (DP 3 a 10 fructanos), y trazas de almidón e inulina. La inulina de alto DP,

oligofruktanos con DP de alrededor 35, que en el yacón parece ser un menor componente. Por el contrario, los oligofruktanos con bajo DP pueden contener por encima de 67% en base seca, esto ha sido comprobado por diferentes investigadores (Carvalho *et al.*, 2004; Asami *et al.*, 1991).

2.4.2 Composición química y propiedades

El yacón es una de las raíces reservantes comestibles con mayor contenido de agua. Según diversos autores, se encuentra entre el 83 y 90% del peso fresco de las raíces. En términos generales, los carbohidratos representan alrededor del 90% del peso seco de las raíces recién cosechadas, de los cuales entre 50 y 70% son fructooligosacaridos (FOS). El resto de carbohidratos lo conforman la sacarosa, fructosa y glucosa (Ohyama *et al.*, 1990 y Hermann *et al.*, 1999). El contenido de azúcares en las raíces de yacón se puede observar en el Cuadro 1; sin embargo, la composición relativa de los diferentes azúcares varia significativamente debido a diferentes factores como el cultivar, la época de siembra y cosecha, tiempo y temperatura en post cosecha, entre otros.

Cuadro 1: Contenido de azúcares en raíces tuberosas de yacón.

Azúcar	Contenido (mg/g Materia Seca)
Fructosa	350.1 ± 42.0
Glucosa	158.3 ± 28.6
Sacarosa	74.5 ± 19.0
GF2	60.1 ± 12.6
GF3	47.4 ± 8.2
GF4	33.6 ± 9.3
GF5	20.6 ± 5.2
GF6	15.8 ± 4.0
GF7	12.7 ± 4.0
GF8	9.6 ± 7.2
GF9	6.6 ± 2.3
Inulina	13.5 ± 0.4

GF_x= glucofructanos, donde el subíndice _x es el número de unidades de fructosa en la molécula.

Fuente: Ohyama *et al.*, 1990.

Por otro lado, la concentración de proteínas, lípidos, fibra, vitaminas y minerales en las raíces es relativamente pequeña (Cuadro 2). Las raíces acumulan también cantidades importantes de compuestos polifenólicos derivados del ácido cafeico, sustancia antioxidante como el ácido clorogénico y triptófano y varias fitoalexinas con actividad fungicida (Takasugi y Masuda, 1996; Yan *et al.*, 1999 y Takenaka *et al.*, 2003).

Cuadro 2: Composición química promedio de 10 entradas de yacón procedentes del Perú, Bolivia, Ecuador y Argentina (en relación a 1 Kg de materia comestible de raíz fresca).

Variable		Promedio	Rango
Materia Seca	g	115.0	98.0 - 136.0
Carbohidratos totales	g	106.0	89.0 - 127.0
Fructanos	g	62.0	31.0 - 89.0
Sacarosa libre	g	14.0	10.0 - 19.0
Fructosa libre	g	8.5	3.9 - 21.1
Glucosa libre	g	3.4	2.3 - 5.9
Proteína	g	3.7	2.7 - 4.9
Fibra	g	3.6	3.1 - 4.1
Lípidos	mg	244.0	112.0 - 464.0
Calcio	mg	87.0	56.0 - 131.0
Fosforo	mg	240.0	182.0 - 309.0
Potasio	mg	2282.0	1843.0 - 2946.0

Fuente: Hermann *et al.*, (1999)

2.4.3 Efecto de fructooligosacáridos en la salud animal

2.4.3.1 Efecto de la harina de yacón en animales

Investigaciones realizadas para evaluar el efecto de la harina de yacón sobre el peso vivo reportan que dietas ricas en harina de yacón no causan diarreas u otros problemas en la salud (Campos *et al.*, 2012; Lobo *et al.*, 2007), no afecta el crecimiento ni el desarrollo en el individuo (Lobo *et al.*, 2007). Campos *et al.* (2012) concluyeron que administrando

11.9gr/100kg de harina de yacón favorece el crecimiento y ganancia de peso en cuyes; así también Lobo *et al.* (2007) y Gonzales (2009), reportaron que tanto para ratas y pavos de engorde el nivel de 0.25% de harina de yacón puede ser empleado en la ración de dichos animales; en el caso de patos, el nivel apropiado es de 0.50%.

El efecto del FOS de la harina de yacón también posee efectos beneficiosos sobre la población de microorganismos y morfometría intestinal; así como lo señala Campos *et al.*, (2012) quienes encontraron que las concentraciones de bifidobacterias y lactobacilus fueron significativamente altos en cuyes alimentados con harina de yacón que con inulina. Por otro lado, Lobo *et al.* (2007) realizaron trabajos en ratas, suministrándoles una ración con 5 y 7.5% de harina de yacón, donde observaron cambios histológicos en el ciego, viéndose un incremento de las bifurcaciones de la cripta. Este resultado también fue comprobado por Campos *et al.* (2012), quien vio el mismo efecto en cuyes; este efecto del FOS proveniente del yacón contribuye a la absorción mineral con consecuencia en la densidad ósea y mantenimiento de la salud del mismo. (Lobo *et al.*, 2007).

Dietas suministradas a cuyes con harina de yacón incrementa la producción de acetato, propionato y butirato en 51, 41 y 1293% respectivamente, mientras que la suplementación con inulina tuvo un incremento bajo en estos ácidos grasos volátiles (21,33 y 1090%) (Campos *et al.*, 2012), siendo que el intestino delgado es el sitio de mayor absorción de minerales, así como el intestino grueso juega un papel importante en la absorción de los mismos, ya que algunas fibras dietéticas son fermentados por las bacterias en el colon. Los ácidos grasos producidos como resultado del incremento en la actividad metabólica de la microflora intestinal, bajo pH luminal resultan en la hipertrofia de las células mucosales, que conduce a la ampliación de la superficie intestinal y mejora la absorción mineral (Lutz *et al.*, 1991). Es así que Lobo *et al.* (2007) en trabajos con ratas observaron que el consumo de harina de yacón resulto en un balance positivo de calcio y magnesio, que conduce a valores altos de retención de minerales en el hueso y propiedades biomecánicas cuando fue comparado con el grupo control. Este efecto positivo sobre la absorción intestinal de minerales, mostro que la harina de yacón cumple un rol importante en el mantenimiento de la salud ósea del individuo. Por lo que

el incremento del número de bifurcaciones puede estar relacionado con la alta absorción mineral causada por la ampliación de la superficie en el intestino delgado.

2.5 Aceite de copaiba

El aceite de copaiba es producido por exudación del tronco de los árboles pertenecientes a la familia *Leguminosae* Juss. Subfamilia *Caesalpinoideae* Kunth (Vieira, 2013) y del género *copaifera* (Arroyo *et al.*, 2009). Son considerados árboles de América Latina. En Perú son encontradas en la zona Amazónica. Además, este aceite tiene un fuerte olor característico, sabor amargo, y es un líquido que va desde transparente, amarillo a marrón claro. Por otra parte, este es rico en terpenos (monoterpenos, sesquiterpenos y diterpenos) (Sachetti *et al.*, 2011), dentro de los principales sesquiterpenos, se encuentran: B-cariofileno, trans - α -bergamotene y B- bisaboleno; y los esqueletos de diterpeno principales son: los de kaurane, labdano y cleorodano (Vieira, 2013).

Algunos investigadores han atribuido las actividades biológicas del aceite de copaiba a la naturaleza compleja de la mezcla de sesquiterpeno y diterpeno, lo que podría afectar el componente activo por un efecto sinérgico (Oliveira *et al.*, 2012).

Este aceite es usado ampliamente en la medicina popular (Fernández *et al.*, 2010) (Cuadro 3), ya que muestra efectos antiinflamatorio, anti-tumor, antiséptico urinario, úlceras, cicatrizante de heridas, (Arroyo *et al.*, 2009), antibacteriano (bacterias gram-positivas), anti-fúngico (Olivera *et al.*, 2008). Así pues, la actividad antimicrobiana de los aceites de copaiba se puso a prueba en varios artículos científicos, presentando buenos resultados en la inhibición bacteriana. Es así que, Oliveira *et al.* (2008) reportaron que el aceite de copaiba muestra una actividad bactericida, disminuyendo la viabilidad de las bacterias Gram-positivas dentro de 3 h; así también se observó actividad moderada frente a hongos dermatofitos

(*Microsporumcanisy Trichophytonrubrum*), sin afectar a las bacterias gram-negativas. Del mismo modo la *S. aureus* tratada con aceite de resina de *C. Martti* provocó la lisis de la bacteria, causando aglomerados celulares, habiéndose producido la ruptura y el daño de la pared celular, dando lugar a la liberación de compuestos citoplasmáticos, las alteraciones en la morfología, y una disminución en el volumen celular, lo que indica que el aceite de copaiba puede afectar la pared celular de las bacterias.

Mendonca *et al.* (2009) (Citado por Vieira, 2013), evaluaron *in vitro*, la actividad antibacteriana de oleo-resina de *C.multijuga* sobre la *E. coli*, *S. aereus* y *P.aeruginosa*. Así también, Deus *et al.* (2011) obtuvieron resultados positivos en la inhibición contra la especies de hongos filamentosos del genero *Aspergillus* y de levaduras del genero *Candida*. Por consiguiente, estos resultados de inhibición del crecimiento bacteriano observados sugieren que el aceite de copaiba puede ser una fuente potencial de moléculas inhibidoras para ser utilizado como propiedades antimicrobianas.

Cuadro 3: Actividad biológica en diferentes especies de oleorresina de *Copaifera*.

Especie	Actividad Biológica Evaluada
<i>C. cearensis</i> Huber ex Ducke	Antimicrobial Anti-inflamatoria Anti-leismaniasis
<i>C. duckei</i> Dwyer	Antiproliferativa Antimutagénica Embriotóxica Anti-inflamatoria Analgésica
<i>C. langsdorffii</i> Desf.	Antimicrobial Atenuación de la isquemia / reperfusión inducida intestinal Efecto gastroprotector en modelos experimentales de la úlcera gástrica en ratas
<i>C. langsdorffii</i> Desf.	Reperfusión de isquemia Anti-leismaniasis Curación de Heridas Antioxidante Insecticida Anti-inflamatoria Antimutagénica
<i>C. lucens</i> Dwyer	Antimicrobial Anti-leismaniasis
<i>C. martii</i> Hayne	Antimicrobial Anti-leismaniasis
<i>C. multijuga</i> Hayne	Anti-inflamatoria Antimicrobial Antitumoral Antinociceptiva

Continuacion...

	Anti-leismaniasis Curación
<i>C. officinalis (Jacq.) L.</i> <i>Continuacion...</i>	Antimicrobial Anti isquémica Anti-inflamatoria Anti-leismaniasis La inhibición de la elastasa de leucocitos humanos Efecto antitumoral (Walker 256 carcinoma)
<i>C. paupera (Herzog) Dwyer</i>	Antimicrobial Anti-leismaniasis
<i>C. reticulata Ducke</i>	Anti-inflamatoria Antimicrobial Insecticida Antinociceptiva Teratogenicidad y embriotoxicidad Toxica Anti-leismaniasis Curación de Heridas Ansiolíticos
<i>C. sp. (commercial copaiba oleoresins)</i>	Antimicrobial Anti-inflamatoria Insecticida

Fuente: Lidiam, 2012.

2.5.1 Terpenos

En el reino de las plantas, especialmente en aquellas que contienen clorofila, se encuentra un grupo de compuestos de diversas estructuras llamados terpenos; todos tienen un origen biosintético común, están formados por la unión de dos o más unidades de isopreno, o bien, existen como una variación de esta misma unidad. La forma completamente saturada de esta molécula de cinco carbonos es el isopentano, por lo que en términos generales se llaman terpenos las sustancias que tienen una estructura isoprenoide o isopentanoide.

La mayoría de isoprenoides o terpenos contienen átomos de carbono en número múltiplo de cinco, lo que da lugar a la siguiente clasificación (Cuadro 4).

Cuadro 4: Clasificación de isoprenoides o terpenos.

Nombre	Nro. De Carbonos	Ejemplo
Monoterpenos	10 (2x5)	aceites volátiles
Sesquiterpenos	15 (3x5)	aceites volátiles
Diterpenos	20 (4x5)	resinas ácidas
Sesterpenos	25 (5x5)	agentes antitumorales
Triterpenos	30 (6x5)	Saponinas
Tetrarpenos o Carotenoides	40 (8x5)	Pigmentos
Politerpenos	(nx5)	Hule

Fuente: Briga, 1962.

Con frecuencia se asocia la palabra terpeno con el término aceites esenciales, al respecto Goodwin (Citado por Briga, 1962) sugiere que el número de los diferentes terpenos que se

encuentran en las plantas, forma el grupo más grande de productos naturales. Es así que a los terpenos se les ha asignado un considerable número de funciones. Sus propiedades de regular el crecimiento son bien conocidas, y dos de los principales reguladores de crecimiento son las abscisinas sesquiterpenoides y las giberelinas. Los carotenoides contribuyen al color de las plantas y también actúan como pigmentos accesorios en la fotosíntesis. La importancia de los monoterpenos y sesquiterpenos, también es conocida, ya que los diferentes olores y aroma de las plantas se deben a ellos; ciertos terpenos no volátiles funcionan como hormonas sexuales entre los hongos.

Los aceites esenciales o volátiles, como su nombre lo indica, son arrastradas por el vapor de agua; sus propiedades físicas y químicas son diferentes a las de los aceites fijos, y con excepción del aceite de almendras amargas y el de mostaza que se producen por hidrólisis de glicósidos, los aceites volátiles ya se encuentran como tales en las plantas, y son secretados por las células en ductos, cavidades y pelos glandulares. Frecuentemente se encuentran asociados a otras sustancias como grasas y resinas, y tienden a resinificarse por exposición al aire.

2.5.2 Efecto del aceite de copaiba en animales

Existen varios trabajos de investigación acerca del efecto del aceite de copaiba en animales. Como el trabajo realizado por Hanna *et al.* (2013) quienes reportaron que, según como se incrementa la inclusión de aceite de copaiba en dietas para gallinas ponedoras, mejora el peso específico del huevo y la calcificación del huevo, lo que indicaría una posible relación del aceite de copaiba y el metabolismo del calcio. Además, cabe mencionar que el nivel óptimo de inclusión de aceite de copaiba para estas aves es de 0.15%. Por otro lado, Fernández *et al.* (2010) estudiaron diferentes niveles de aceite de copaiba en pollos (0.15, 0.30, 0.45, 0.60 ml/kg), siendo que el nivel de inclusión de 0,15 ml / kg permite un adecuado desempeño de pollos de engorde, esto probablemente a que niveles altos de este aceite causa una depresión

en el consumo de alimento y en la ganancia de peso, como lo reportado por Sachetti *et al.* (2011), quienes realizaron trabajos en ratas preñadas, encontrando que dosis igual o mayor a 1000mg/kg PV/día causa una reducción en el consumo y el peso promedio de los fetos también fueron bajos.

Sin embargo, Koiyama *et al.* (2013) vieron que la suplementación de 200 ppm de aceite de copaiba en dietas para pollos no mejoro el rendimiento de estos (ganancia de peso y conversión alimenticia). Según Simoes *et al.* (2001) (Citado por López, 2013), esta respuesta parece indicar que un nivel alto de aceite de copaiba en dietas para pollos jóvenes puede ser toxico, por tanto deteriora el crecimiento de las aves. Así pues, Silva *et al.* (2008) (Citado por López, 2013) menciona que, la presencia de *B*-cariofileno causa hemolisis en diferentes tipos de eritrocitos, incluyendo el del pollo, por lo que estos terpenos deben utilizarse con precaución. Lo anterior puede explicar en parte el efecto negativo sobre el peso corporal de las aves alimentadas con niveles de inclusión alta de aceite de copaiba. En pocas palabras, se necesitan más estudios para dilucidar el mecanismo de acción y la dosis optima en el rendimiento para pollos de carne.

2.6 Importancia de la integridad intestinal

El tracto gastrointestinal de las aves es el sistema que más sufre ataques debido a la alta velocidad de pasaje de los alimentos, aparte de las funciones de liberación y absorción de nutrientes, también desempeña otras funciones vitales. Una de ellas es la inmunidad adquirida, que tiene como principal órgano al intestino, el más grande del sistema inmune adaptativo. Siendo que, los desafíos infecciosos son una forma común de estrés a los cuales están expuestas las aves que pueden o no, resultar en la aparición de enfermedades clínicas que dependen de varios factores, como la patogenicidad del microorganismo invasor y la competencia inmunológica del ave. Independientemente de estos resultados, el sistema inmune

activado afectara negativamente el crecimiento, con la disminución de los índices productivos (Suhair, 2013).

Por otra parte, en el ave, el epitelio del intestino delgado se renueva continuamente por la proliferación de células de la cripta que migran hasta las vellosidades. Durante este proceso de migración, los enterocitos adquieren funciones diferenciadas en términos de digestión, absorción y secreción de mucina. El desarrollo de las criptas es un paso crucial en la maduración intestinal. Este incremento en el número y tamaño de las criptas tienen dos efectos directos: 1) proporcionar enterocitos para incrementar el área de superficie absorptiva y 2) aumentar la tasa de renovación celular (Geyra, 2001). De modo que, mantener y promover la salud e integridad funcional del intestino es un elemento clave para los siguientes procesos digestivos y metabólicos, mantener una barrera mucosa semipermeable es un factor crítico para la asimilación de nutrientes; este pequeño balance puede ser alterado por procesos inflamatorios crónicos, de injurias permanentes de curso subclínico, provocado por patógenos microbianos. Es así que para promover y mantener una verdadera salud intestinal es necesario tomar en cuenta sus propiedades fisiológicas y los probables factores que alteran su estabilidad morfo-funcional; logrando controlar estas variables podemos esperar la máxima expresión fenotípica de las características genéticas de las líneas de aves que estamos criando. (Koga, 2012).

III MATERIALES Y METODOS

3.1 Lugar de ejecución

El presente estudio se realizó en el Laboratorio de Investigación en Nutrición y Alimentación de Aves (LINAA) de la Universidad Nacional Agraria de La Molina (UNALM), durante los meses de Abril a Mayo del 2013.

3.2 Animales experimentales

Se emplearon 120 pollos BB de la Línea Cobb 500, machos de un día de edad. Estos 120 pollos fueron distribuidos al azar en 4 tratamientos de 30 pollos cada uno. Cada tratamiento consto con tres repeticiones, por repetición 10 pollos cada uno. El periodo de crianza fue de 21 días.

3.3 Instalaciones y equipos

El experimento fue llevado a cabo en dos jaulas metálicas de malla galvanizada (baterías) de cinco pisos cada una y con dos divisiones por piso. Estuvieron implementadas con comederos tipo canaleta y bebederos tipo tongo.

Las aves estuvieron alojadas sobre viruta. Durante los primeros tres días de vida se colocó papel periódico, mientras que el alimento fue suministrado en comederos lineales y el agua de bebida en bebederos tipo tongo.

Antes y después del periodo experimental se realizó la limpieza y desinfección de las instalaciones.

3.4 Actividades especiales

Para el desafío de las aves se empleó un inóculo de coccidia preparado a partir de una vacuna comercial contra coccidias (Immucox for Chickens II, Vetech Laboratories; ver Anexo I). El agua de bebida fue potabilizada empleando 1ml de hipoclorito de sodio al 4.5% por cada 10 L de agua. Para evitar que la presencia de cloro interfiera con la viabilidad del inóculo, la cloración del agua se realizó tres días antes de proveerla a las aves y diariamente, al momento de suministrarla a las aves, se verificó la ausencia de cloro empleando un Kit comercial de evaluación.

3.5 Modelo de desafío coccidial

En el día 14 de edad, por vía oral y empleando cánulas oro-ingluviales, se administró una dosis de un inóculo de coccidia preparado para contener oocistos no atenuados provenientes de aislamientos de campo de *E. acervulina*, *E. máxima*, *E. tenella*, *E. necatrix* y *E. brunetti* con una concentración total no menor a 24×10^5 oocistos vivos por dosis, equivalente a 10 dosis de una vacuna comercial (Immucox for Chickens II, Vetech Laboratories).

3.6 Tratamientos

Los tratamientos a evaluar fueron los siguientes:

Tratamiento 1 (T1): Dieta sin anticoccidial con desafío.

Tratamiento 2 (T2): Dieta con anticoccidial con desafío.

Tratamiento 3 (T3): Dieta con harina de yacón (0.25%) con desafío.

Tratamiento 4 (T4): Dieta con aceite de copaiba (0.15 ml/kg de alimento) con desafío.

Las dietas experimentales fueron formuladas siguiendo las especificaciones nutricionales de la Línea Cobb 500. La composición y valor nutricional calculado de las dietas usadas en el ensayo se muestran en los Cuadros 5, 6, 7 y 8.

El contenido de fructooligosacáridos de la harina de yacón se determinó en el Laboratorio del Instituto de Biotecnología de la Universidad Nacional Agraria La Molina.

3.7 Alimentación

En el periodo de 1 a 14 días de edad se suministró una dieta basal a base de maíz, soya y harina de pescado, y a partir del día 15 de edad se suministró una dieta basal a base de maíz y soya. Ambas dietas fueron complementadas con aminoácidos sintéticos, y suplementadas con un pre mezcla de vitaminas y minerales. La alimentación fue *ad libitum*.

Cuadro 5: Características de la dieta sin coccidiostato.

Ingredientes	%		Nutriente	<u>Aporte nutricional</u>		Componentes	<u>composición proximal , %</u>	
	De 1 a14 Días	De 15 a 21 Días		De 1 a14 días	De 15 a 21 Días		De 1 a14 Días ⁴	De 15 a 21 Días ³
Maíz	51.92	61.09	EM, Kcal/Kg	2998.20	3072.00	Humedad	11.16	11.37
Torta de Soya	26.72	31.44	Proteína cruda, %	27.55	20.50	Proteína	27.51	20.52
Aceite Crudo Soya	2.82	3.32	Lisina, %	1.83	1.26	Grasa	6.42	6.19
Harina de Pescado Prime	15.00	0.00	Metionina + Cistina, %	1.09	0.94	Fibra Cruda	1.74	2.05
Fosfato Bicalcico	1.58	1.86	Treonina, %	1.12	0.82	Ceniza	6.04	5.06
Carbonato de Calcio	0.66	0.77	Triptófano, %	0.31	0.23	ELN²	47.13	54.81
Sal Común	0.39	0.46	Calcio, %	1.30	0.87			
Metionina DL	0.24	0.28	Fosforo disponible, %	0.74	0.44			
Lisina HCL	0.19	0.22	Sodio, %	0.27	0.20			
Pre mezcla ¹	0.10	0.12	Grasa total, %	5.97	6.15			
Cloruro Colina 60%	0.09	0.10	Fibra cruda, %	2.26	2.48			
Secuestrante de Micotoxinas	0.09	0.10						
Treonina L	0.04	0.05						
Zinc Bacitracina	0.04	0.05						
Arena	0.04	0.05						
Harina de Yacón	0.00	0.00						
Coccidiostato	0.00	0.00						
Antifúngico	0.04	0.05						
Antioxidante	0.04	0.05						

¹Premezcla de vitaminas y minerales Proapk 2A®. Composición: Retinol: 12'000,000 UI; Colecalciferol: 2'500,000 UI; DL α- Tocoferol Acetato: 30'000UI; Riboflavina: 5.5 g; Piridoxina: 3g; Cianocobalamina: 0.015 g; Menadiona:3 g; Acido Folico: 1 g; Niacina: 30 g; Acido Pantoténico: 11g; Biotina: 0.15 g; Zn: 45 g; Fe:80 g; Mn:65g; Cu: 8 g. I: 1 g; Se: 0.15 g; Excipiente c.sp. 1,000g. Antifúngico: Mold Zap ®; Antioxidante: Danox®.

² EM: Energía metabolizable; Proteína total: Nx6.25; ELN: Extracto libre de nitrógeno (calculado).

³ Informe de ensayo 1285/2013 LENA. UNALM.

⁴ Calculado a partir de los análisis proximales de la dieta empleada de 15 a 21 días edad (85%) y de la harina de pescado (15%) empleadas en su producción.

Cuadro 6: Características de la dieta con coccidial.

Ingredientes	%		Nutriente	Aporte nutricional		Componentes	composición proximal 4, %	
	De 1 a14 días	De 15 a 21 Días		De 1 a14 días	De 15 a 21 días		De 1 a14 Días ⁴	De 15 a 21 Días ³
Maíz	51.92	61.09	Nutrientes			Humedad	11.08	11.28
Torta de Soya	26.72	31.44	EM, Kcal/Kg	2998.20	3072.00	Proteína	27.46	20.46
Aceite Crudo Soya	2.82	3.32	Proteína cruda, %	27.55	20.50	Grasa	6.35	6.11
Harina de Pescado Prime	15.00	0.00	Lisina, %	1.83	1.26	Fibra Cruda	1.78	2.09
Fosfato Bicalcico	1.58	1.86	Metionina + Cistina, %	1.09	0.94	Ceniza	8.13	5.15
Carbonato de Calcio	0.66	0.77	Treonina, %	1.12	0.82	ELN²	47.22	54.91
Sal Común	0.39	0.46	Triptófano, %	0.31	0.23			
Metionina DL	0.24	0.28	Calcio, %	1.30	0.87			
Lisina HCL	0.19	0.22	Fosforo disponible, %	0.74	0.44			
Pre mezcla ¹	0.10	0.12	Sodio, %	0.27	0.20			
Cloruro Colina 60%	0.08	0.10	Grasa total, %	5.97	6.15			
Secuestrante de Micotoxinas	0.09	0.10	Fibra cruda, %	2.26	2.48			
Treonina L	0.04	0.05						
Zinc Bacitracina	0.04	0.05						
Arena	0.00	0.00						
Harina de Yacón	0.00	0.00						
Coccidiostato	0.04	0.05						
Antifúngico	0.04	0.05						
Antioxidante	0.04	0.05						

¹Premezcla de vitaminas y minerales Proapk 2A®. Composición: Retinol: 12'000,000 UI; Colecalciferol: 2'500,000 UI; DL α- Tocoferol Acetato: 30'000UI; Riboflavina: 5.5 g; Piridoxina: 3g; Cianocobalamina: 0.015 g; Menadiona:3 g; Acido Folico: 1 g; Niacina: 30 g; Acido Pantoténico: 11g; Biotina: 0.15 g; Zn: 45 g; Fe:80 g; Mn:65g; Cu: 8 g. I: 1 g; Se: 0.15 g; Excipiente c.sp. 1,000g. Antifúngico: Mold Zap ®; Antioxidante: Danox®.

² EM: Energía metabolizable; Proteína total: Nx6.25; ELN: Extracto libre de nitrógeno (calculado).

³ Informe de ensayo 1285/2013 LENA. UNALM.

⁴ Calculado a partir de los análisis proximales de la dieta empleada de 15 a 21 días edad (85%) y de la harina de pescado (15%) empleadas en su producción.

Cuadro 7: Características de la dieta con harina de yacón al 0.25% por kg. de alimento

Ingredientes	%		Nutriente	Aporte nutricional		Componentes	Composición proximal 4, %	
	De 1 a14 Días	De 15 a 21 Días		De 1 a14 Días	De 15 a 21 días		De 1 a14 Días ⁴	De 15 a 21 Días ³
Maíz	51.67	60.79	Nutrientes			Humedad	11.12	11.33
Torta de Soya	26.75	31.47	EM, Kcal/Kg	2998.20	3072.00	Proteína	27.52	20.53
Aceite Crudo Soya	2.83	3.33	Proteína cruda, %	27.55	20.50	Grasa	6.32	6.08
Harina de Pescado Prime	15.00	0.00	Lisina, %	1.83	1.26	Fibra Cruda	1.79	2.11
Fosfato Bicalcico	1.58	1.86	Metionina + Cistina, %	1.09	0.94	Ceniza	6.09	5.11
Carbonato de Calcio	0.66	0.77	Treonina, %	1.12	0.82	ELN²	47.16	54.84
Sal Común	0.39	0.46	Triptófano, %	0.32	0.23			
Metionina DL	0.24	0.28	Calcio, %	1.30	0.87			
Lisina HCL	0.19	0.22	Fosforo disponible, %	0.74	0.44			
Pre mezcla ¹	0.10	0.12	Sodio, %	0.27	0.20			
Cloruro Colina 60%	0.09	0.10	Grasa total, %	5.98	6.15			
Secuestrante de Micotoxinas	0.09	0.10	Fibra cruda, %	2.26	2.49			
Treonina L	0.04	0.04						
Zinc Bacitracina	0.04	0.05						
Arena	0.04	0.05						
Harina de Yacón	0.21	0.25						
Coccidiostato	0.00	0.00						
Antifúngico	0.04	0.05						
Antioxidante	0.04	0.05						

¹Premezcla de vitaminas y minerales Proapck 2A®. Composición: Retinol: 12'000,000 UI; Colecalciferol: 2'500,000 UI; DL α- Tocoferol Acetato: 30'000UI; Riboflavina: 5.5 g; Piridoxina: 3g; Cianocobalamina: 0.015 g; Menadiona:3 g; Acido Folico: 1 g; Niacina: 30 g; Acido Pantoténico: 11g; Biotina: 0.15 g; Zn: 45 g; Fe:80 g; Mn:65g; Cu: 8 g. I: 1 g; Se: 0.15 g; Excipiente c.sp. 1,000g. Antifúngico: Mold Zap ®; Antioxidante: Danox®.

² EM: Energía metabolizable; Proteína total: Nx6.25; ELN: Extracto libre de nitrógeno (calculado).

³ Informe de ensayo 1285/2013 LENA. UNALM.

⁴ Calculado a partir de los análisis proximales de la dieta empleada de 15 a 21 días edad (85%) y de la harina de pescado (15%) empleadas en su producción.

Cuadro 8: Características de la dieta con 0.15 ml de aceite de copaiba por kg. de alimento.

Ingredientes	%		Aporte nutricional			composición proximal 4, %		
	De 1 a14 Días	De 15 a 21 Días	Nutriente	De 1 a14 Días	De 15 a 21 días	Componentes	De 1 a14 Días ⁴	De 15 a 21 Días ³
Maíz	51.92	61.09	Nutrientes			Humedad	11.06	11.26
Torta de Soya	26.72	31.44	EM, Kcal/Kg	2998.20	3072.00	Proteína	27.51	20.52
Aceite Crudo Soya	2.82	3.315	Proteína cruda, %	27.55	20.50	Grasa	6.54	6.34
Harina de Pescado Prime	15.00	0.00	Lisina, %	1.83	1.26	Fibra Cruda	1.76	2.07
Fosfato Bicalcico	1.58	1.86	Metionina + Cistina, %	1.09	0.94	Ceniza	6.16	5.20
Carbonato de Calcio	0.66	0.77	Treonina, %	1.12	0.82	ELN²	46.96	54.61
Sal Común	0.39	0.46	Triptófano, %	0.31	0.23			
Metionina DL	0.24	0.28	Calcio, %	1.30	0.87			
Lisina HCL	0.19	0.22	Fosforo disponible, %	0.74	0.44			
Pre mezcla ¹	0.10	0.12	Sodio, %	0.27	0.20			
Cloruro Colina 60%	0.09	0.10	Grasa total, %	5.97	6.15			
Secuestrante de Micotoxinas	0.09	0.10	Fibra cruda, %	2.26	2.48			
Treonina L	0.04	0.05						
Zinc Bacitracina	0.04	0.05						
Arena	0.04	0.05						
Harina de Yacón	0.00	0.00						
Coccidiostato	0.00	0.00						
Antifúngico	0.04	0.05						
Antioxidante	0.04	0.05						
Aceite de copaiba (ml)	15.00	15.00						

¹Premezcla de vitaminas y minerales Proapk 2A®. Composición: Retinol: 12'000,000 UI; Colecalciferol: 2'500,000 UI; DL α - Tocoferol Acetato: 30'000UI; Riboflavina: 5.5 g; Piridoxina: 3g; Cianocobalamina: 0.015 g; Menadiona:3 g; Acido Fólico: 1 g; Niacina: 30 g; Acido Pantoténico: 11g; Biotina: 0.15 g; Zn: 45 g; Fe:80 g; Mn:65g; Cu: 8 g. I: 1 g; Se: 0.15 g; Excipiente c.sp. 1,000g. Antifúngico: Mold Zap ®; Antioxidante: Danox®.

² EM: Energía metabolizable; Proteína total: Nx6.25; ELN: Extracto libre de nitrógeno (calculado).

³ Informe de ensayo 1285/2013 LENA. UNALM.

⁴ Calculado a partir de los análisis proximales de la dieta empleada de 15 a 21 días edad (85%) y de la harina de pescado (15%) empleadas en su producción.

3.8 Mediciones de los parámetros productivos

a. Peso Vivo y Ganancia de Peso

Los pesos de las aves fueron tomados el primer día, posteriormente el control de los pesos se llevó a cabo semanalmente en forma individual, obteniéndose los pesos promedios por lote, para determinar la ganancia de peso, anotándose en un cuaderno control.

b. Consumo de Alimento

El control semanal de consumo de alimento se llevó a cabo sumando los repartos en la semana menos el residuo al final de esta, obteniéndose el promedio del lote.

c. Conversión Alimentaria

Para el cálculo de la conversión alimentaria (C.A) se emplearon las siguientes formulas:

$$\text{C.A} = \frac{\text{Consumo de alimento}}{\text{Ganancia de peso}}$$

3.9 Protocolo para el muestreo intestinal:

En el día 21 se colectaron 3 segmentos del intestino delgado de 2 cm cada uno. El primer segmento a colectar se ubicó al inicio del duodeno (duodeno craneal); el segundo se ubicó a unos 2 cm de la salida del colédoco (duodeno caudal); mientras que el tercero correspondió al yeyuno, el cual se ubicó a unos 8 cm antes del divertículo de Meckel. Para ello se usaron 2 aves por cada unidad experimental.

Las aves fueron tomadas al azar, estas tenían un tamaño promedio representativo del tratamiento y estaban en buen estado sanitario. Luego fueron sacrificados por la técnica de dislocación cervical y se procedió a coleccionar los tres segmentos de intestino:

1. Del duodeno craneal, se practicó un corte al inicio del asa duodenal.
2. Del duodeno caudal, se practicó un corte a 2 cm de la salida del colédoco.
3. Del yeyuno se procedió a seccionar un punto ubicado 5 cm antes del divertículo de Meckel.

Las muestras fueron tomadas en el Laboratorio de Patología Aviar de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, en donde estas fueron guardadas en formol al 10% y etiquetadas, para luego ser remitidas a la Universidad Cayetano Heredia.

El procedimiento del laboratorio fue el mismo que el empleado por Eusebio (2007), la muestra se retiró del fijador y se lavó con agua corriente por lo menos 12 horas para proseguir con la deshidratación la cual se llevó a cabo en 4 pasos:

- Dos baños con alcohol de 70° por 1 hora cada uno.
- Dos baños con alcohol de 95° por 3 horas cada uno, hasta 21 horas con alcohol de 100° cambiándolo luego por alcohol-xilol, mezcla de ambas sustancias en proporciones iguales por media hora.
- Dos baños con xilol puro, de media hora cada uno, hasta que las muestras se vean transparentes.

Posteriormente, las muestras fueron pasadas por parafina por media hora, dándose así, el primer baño. Para el segundo baño se dejó las piezas por media hora más, seguidamente se llevó a cabo la inclusión en los moldes de parafina respectivos.

Los tacos de parafina se llevaron al micrótopo y se realizaron cortes seriados de 5 micras de espesor. Estos cortes se extendieron en gelatina, se colocaron en láminas portaobjetos y se llevaron a la plancha a secar por 24 horas.

Finalmente, se realizó la colocación de hematoxilina-eosina para lo cual se siguieron los siguientes pasos:

1. Desparafinado en xilol por 5 minutos.
2. Desparafinado en alcohol por 5 minutos.
3. Desparafinado en alcohol de 95° por 5 minutos.
4. Desparafinado en alcohol de 70° por 5 minutos.
5. Desparafinado en agua destilada por 5 minutos.
6. Coloreado con hematoxilina por 2 a 3 minutos.
7. Lavado con alcohol de 95° por 1 minuto.
8. Deshidratación en alcohol absoluto por 5 minutos.
9. Aclaración en xilol mediante 3 cambios por 5 minutos cada uno.
10. Montaje de lámina en una laminilla con una gota de Per Mount.

Una vez preparadas las láminas histológicas, con 4 cortes histológicos cada una, pertenecientes a las 2 aves muestreadas por cada unidad experimental, se procedió a realizar las mediciones siguiendo una adaptación del protocolo de evaluación utilizado por Batista de Olivera *et al.* (2000).

Las mediciones se realizaron usando un microscopio óptico que contaba con un ocular micrométrico. Para tomar las mediciones de altura y ancho de vellosidad y profundidad de cripta se usó el objetivo de 10x y para el conteo de células caliciformes y de lámina propia, el objetivo de 40x. El cálculo de las mediciones se realizó utilizando un factor de corrección, multiplicando el factor del objetivo (0.010) por el número de líneas que abarca el tamaño del ocular micrométrico por 1000, dándonos el valor en micrómetros (μm).

3.10 Mediciones morfométricas

a. Altura de vellosidad

Se seleccionaran vellosidades integras y perpendiculares a la pared intestinal. El promedio de las alturas de vellosidades de las 6 láminas histológicas (2 por repetición), fue el promedio de la altura de vellosidades de cada tratamiento.

b. Número de células caliciformes

Se cuantifico el número de células caliciformes de cada una de las vellosidades intestinales seleccionadas. Para el análisis estadístico, se sumó el conteo de las vellosidades, el cual representa a cada unidad experimental.

c. Profundidad de cripta

Se midieron las profundidades de criptas comprendidas entre las vellosidades seleccionadas para la medición de la altura de vellosidad, en cada lámina histológica. El promedio de la profundidad de cripta de las láminas histológicas fue el promedio de la profundidad de cripta de cada tratamiento.

d. Relación entre altura de vellosidad y profundidad de cripta

Esta relación resulto de la división del promedio de la altura de vellosidad y el promedio de la profundidad de cripta de cada lámina histológica de unidad experimental.

$$\text{Relación} = \frac{\text{Altura de vellosidad intestinal}}{\text{Profundidad de cripta intestinal}}$$

3.11 Diseño experimental

Se empleó el Diseño Completamente al Azar (DCA), (Calzada, 1982) con cuatro tratamientos y tres repeticiones por tratamientos y la comparación de medias se realizó utilizando la prueba de Duncan ($p < 0.05$). La unidad experimental estuvo constituida por 10 aves.

El modelo aditivo lineal matemático es el siguiente:

$$Y_{ij} = \mu + t_i + e_{ij}$$

Dónde:

μ = *Media poblacional.*

t_i = *Efecto del i-ésimo tratamiento*

e_{ij} = *Efecto del error.*

Para analizar los datos se usó el paquete estadístico de SAS (Software Statistical Analysis System, SAS Institute, 1999).

IV RESULTADOS Y DISCUSION

El presente estudio se llevó a cabo con la finalidad de determinar la efectividad de dos aditivos no convencionales, harina de yacón y aceite de copaiba, y un coccidiostato comercial frente a un desafío con coccidias a pollos de carne de 1 a 21 días de edad. Para cumplir con este propósito el ensayo se dividió en dos fases: de 1 a 14 días de edad y de 15 a 21 días de edad. El desafío con coccidias tuvo lugar el día 14. Por lo tanto, los resultados de respuesta productiva se discuten en base a estas fases y el efecto del desafío con coccidias se limita a la fase de 15 a 21 días de edad.

4.1. Respuesta productiva de 1 a 14 días de edad.

Durante esta fase del estudio los animales experimentales recibieron dietas que contenían 15 % de harina de pescado (dietas hiperproteicas; Cuadros 5, 6, 7 y 8) con la finalidad de “condicionar” al tracto intestinal a ser más sensibles al ataque de microorganismos patógenos, como las coccidias. Los resultados de la respuesta productiva de los animales a los tratamientos dietarios durante este periodo de presentan en el Cuadro 9. Los datos reflejan que los tratamientos dietarios no tuvieron influencia significativa ($P>0.05$) en ninguna de las mediciones realizadas. Sin embargo, la conversión alimentaria tiende a ser mayor en el grupo de animales que recibió la dieta que no tenía coccidiostato en su composición (T1). En aves que recibieron dietas que contenían coccidiostato, harina de yacón (fuente de FOS) o aceite de copaiba los valores de conversión alimentaria fueron similares numéricamente.

Se sugiere que la inclusión de FOS (4 por ciento), como prebiótico, en dietas de pollos de carne estimula un incremento en el crecimiento de bacterias y lactobacillus en el tracto gastrointestinal promoviendo un aumento en la concentración de ácidos grasos de cadena corta y que éstos últimos favorecen una mejora de la salud intestinal resultando en una mejor

respuesta productiva del animal (Xu *et al.*, 2003), pero este comportamiento no se observó en el presente estudio ni en los datos reportados en pavos por Gonzales (2009). La diferencia puede ser debido al menor nivel de harina de yacón (0.25%; Cuadro 7) utilizado en el presente ensayo o al nivel de 0.25% utilizado por Gonzales (2009). En relación a la respuesta productiva del grupo de animales que fue alimentado con la dieta que contenía aceite de copaiba (T4), los resultados obtenidos en el presente ensayo están de acuerdo con los datos reportados por Lopez *et al.* (2013) y Koiyama *et al.* (2013), quienes no encontraron diferencias significativas en los parámetros productivos de grupo de animales que recibieron dietas sin promotor de crecimiento, con promotor de crecimiento o con aceite de copaiba.

Cuadro 9: Respuesta productiva de pollos de carne alimentados con las dietas experimentales (1 a 14 días de edad)

TRATAMIENTOS ¹	MEDICIONES				
	Peso Inicial, g	Peso Final g	Ganancia de Peso, g/día	Consumo de Alimento, g/día	Conversion Alimentaria
T1	44.90 ^{2a}	539.73 ^a	35.35 ^a	49.95 ^a	1.41 ^a
T2	44.43 ^{2a}	553.53 ^a	36.36 ^a	50.68 ^a	1.39 ^a
T3	44.23 ^a	554.50 ^a	36.45 ^a	50.53 ^a	1.39 ^a
T4	44.00 ^a	544.47 ^a	35.75 ^a	49.80 ^a	1.39 ^a

¹. T1: Grupo control (sin coccidiostato); T2: Grupo con coccidiostato; T3: Grupo con 0.25% de harina de yacón (contenido de fructo-oligosacáridos: 37.45g FOS/100g de harina de yacón);

T4: Grupo con 0.150 ml de aceite de copaiba/kg de alimento.

². Valores son promedios de tres repeticiones de 10 aves cada una (30 aves por tratamiento).

^a Valores con letras similares son diferentes estadísticamente (P>0.05).

4.2. Respuesta productiva de 15 a 21 días de edad.

El comportamiento productivo de los animales en este periodo ha estado condicionado a la respuesta al inóculo (desafío) de coccidia aplicado a los animales al día 14. En general, no se observó mortalidad, ni aves postradas por efecto del desafío con coccidia.

La respuesta productiva durante este periodo se muestra en el Cuadro 10. Los valores de ganancia de peso por día, consumo de alimento y la conversión alimentaria no fueron afectados significativamente ($P>0.05$) por los tratamientos dietarios. Sin embargo, los valores de conversión alimentaria de los grupos que recibieron las dietas que contenía coccidiostato (T2) y aceite de copaiba (T4) fueron numéricamente menores que los grupos que fueron alimentados con dieta sin coccidiostato (T1) y con FOS aportado por la harina de yacón (T3). Los valores de conversión alimentaria de las aves que recibieron los T2 y T4 pueden ser el resultado del efecto protector del coccidiostato y del aceite copaiba frente a la presencia de coccidias en tracto gastrointestinal. Datos en la literatura indican que la infección por coccidias afecta la morfometría intestinal y como resultado de ello hay menos capacidad de digestión y absorción de nutrientes comprometiendo así la conversión alimentaria (Patra *et al.* 2010; Allen, 1997; Adams *et al.* 1996).

El efecto protector del aceite de copaiba en cuadros de coccidiosis en aves no se ha demostrado anteriormente y el presente estudio es el primer trabajo que documenta esta relación. Sin embargo, existe un antecedente de que el aceite de copaiba ejerce un efecto protector en cuadros de lesiones (úlceras) gástricas en ratas (Arroyo *et al.*, 2009). Además, actualmente existe considerable información indicando la potencialidad del uso de productos fitogénicos, aceites esenciales, entre otros, como alternativas para el control de los cuadros de coccidiosis aviar (Abbas *et al.*, 2012; Kamil *et al.*, 2012; Luquetti *et al.*, 2012; Giannenas *et al.*, 2003). La tendencia de mejorar la conversión alimentaria en pollos de carne que consumieron la dieta con aceite de copaiba debe ser confirmada en experimentos posteriores.

Cuadro 10: Respuesta productiva de pollos de carne alimentados con las dietas experimentales (15 a 21 días de edad)

TRATAMIENTOS ¹	MEDICIONES			
	Peso Vivo g	Ganancia de Peso g/día	Consumo de Alimento, g/día	Conversion Alimentaria
T1	1049.84 ^{2 a}	72.87 ^a	103.22 ^a	1.42 ^a
T2	1070.22 ^a	73.81 ^a	98.13 ^a	1.33 ^a
T3	1049.37 ^a	70.70 ^a	102.51 ^a	1.45 ^a
T4	1054.52 ^a	72.87 ^a	95.90 ^a	1.32 ^a

¹. T1: Grupo control (sin coccidiostato); T2: Grupo con coccidiostato; T3: Grupo con 0.25% de harina de yacón (contenido de fructo-oligosacáridos: 37.45g FOS/100g de harina de yacón);

T4: Grupo con 0.150 ml de aceite de copaiba/kg de alimento.

². Valores son promedios de tres repeticiones de 10 aves cada una (30 aves por tratamiento).

^a Valores con letras similares son diferentes estadísticamente (P>0.05).

4.3. Excreción de ooquistes en las heces.

El número de ooquistes en las heces de pollos de carne infectados experimentalmente con *Eimerias* a los 14 días de edad y que estuvieron recibiendo los diferentes tratamientos dietarios se presenta en el Cuadro 11. A pesar de que la diferencia numérica es considerable, no se encontró diferencia estadística significativa ($P>0.05$) en los tratamientos. Sin embargo, es posible observar que los números de ooquistes por g de heces son mayores para los grupos que recibieron el T3 (con harina de yacón) seguido por el grupo que recibió el T1 (control, sin coccidiostato) y son menores para los grupos alimentados con el T4 (aceite de copaiba) o con el T2 (con coccidiostato). El alto número de ooquistes en heces del grupo que recibió el T1 era de esperarse dado que la dieta no contenía coccidiostato. En cuanto a los otros resultados se sugiere que, a diferencia de la harina de yacón (fuente de FOS), el coccidiostato y el aceite de copaiba tienden a reducir la cantidad de ooquistes en las heces.

Numerosos experimentos han demostrado la efectividad de los coccidiostatos en reducir la cantidad de ooquistes en las heces o en la cama de aves; así también, algunos reportes en la literatura indican que algunos extractos herbales (Efterpi *et al.*, 2004), hongos (Willis *et al.*, 2010), aceite esenciales de orégano (Martínez, 2012; Major *et al.*, 2011; Giannenas *et al.*, 2003) han demostrado tener un efecto en la protección o combatiendo los efectos de la infección por coccidias. En cuanto al aceite de copaiba, éste podría haber contribuido a la reducción del número de ooquistes en las heces de pollos debido a su actividad bactericida a través de un proceso de ruptura (lisis) de la pared celular bacteriana (Oliveira *et al.*, 2008). Mayor investigación es necesaria en este rubro.

Cuadro 11. Número de ooquistes en heces de pollos de carne infectados

experimentalmente con *Eimerias* al 14vo día de edad.

TRATAMIENTOS ¹	Ooquistes Número/g heces
T1	12067 ^a
T2	6050 ^a
T3	13317 ^a
T4	7850 ^a

¹T1: Grupo control (sin coccidiostato); T2: Grupo con coccidiostato; T3: Grupo con 0.25% de harina de yacón (contenido de fructo-oligosacáridos: 37.45g FOS/100g de harina de yacón); T4: Grupo con 0.150 ml de aceite de copaiba/kg de alimento.

En el presente trabajo se observó heces con sangre y restos de mucosas, un rasgo característico de la coccidiosis. A la necropsia, se encontró un contenido lechoso en los intestinos debido a la formación de ooquistes y, además, se observaron lesiones intestinales que son compatibles con presencia de *E. acervulina* y *E. máxima* (Ver fotos en Anexos XI, XII, XIII, XIV).

4.4. Morfometría intestinal

El efecto conjunto de la infección experimental con *Eimerias* al 14vo día de edad y los tratamientos dietarios sobre la morfometría (altura de vellosidad, profundidad de cripta, número de células caliciformes (CC) y relación altura de vellosidad con profundidad de cripta (AV: PC) de los diferentes segmentos del intestino delgado (duodeno, yeyuno e íleon) de animales experimentales se presenta en el Cuadro 12.

Los valores promedios de altura de vellosidad y relación AV: PC del duodeno, yeyuno e íleon no fueron influenciados significativamente ($P>0.05$) por los tratamientos dietarios. Asimismo, la profundidad de cripta (en el yeyuno e íleon) y el número de CC (en el duodeno y yeyuno) tampoco fueron significativamente afectados significativamente ($P>0.05$) por los tratamientos dietarios. Por el contrario, la profundidad de cripta (en el duodeno) y las CC (en el íleon) si fueron significativamente influenciado ($P<0.05$) por los tratamientos dietarios. Profundidad de cripta duodenal con valores mayores correspondieron a los grupos de animales que recibieron el T4 y el T2 y los valores menores a

Cuadro 12. Morfometría de los diferentes segmentos del intestino delgado (duodeno, yeyuno e íleon) en pollos infectados experimentalmente con *Eimerias* al 14vo día de edad.

DUODENO				
Tratamiento ¹	Altura de Vellosidades (AV) (um)	Profundidad de Cripta (PC) (um)	Células Caliciformes (No.)	Relación AV:PC
T1	956.64 ^a	193.37 ^b	141.81 ^a	5.48 ^a
T2	1004.05 ^a	239.13 ^{ab}	125.27 ^a	4.56 ^a
T3	986.45 ^a	182.84 ^b	142.99 ^a	5.64 ^a
T4	1030.94 ^a	257.22 ^a	122.72 ^a	4.06 ^a

YEYUNO				
Tratamiento ¹	Altura de Vellosidades (AV) (um)	Profundidad de Cripta (PC) (um)	Células Caliciformes (No.)	Relación AV:PC
T1	872.28 ^a	234.44 ^a	138.81 ^a	3.83 ^a
T2	963.98 ^a	259.23 ^a	138.13 ^a	3.73 ^a
T3	905.85 ^a	216.65 ^a	143.00 ^a	4.21 ^a
T4	936.03 ^a	247.37 ^a	112.32 ^a	3.85 ^a

ÍLEON				
Tratamiento ¹	Altura de Vellosidades (AV) (um)	Profundidad de Cripta (PC) (um)	Células Caliciformes (No.)	Relación AV:PC
T1	608.76 ^a	204.11 ^a	100.78 ^{ab}	3.08 ^a
T2	708.61 ^a	190.28 ^a	98.07 ^{ab}	3.75 ^a
T3	653.00 ^a	179.13 ^a	115.41 ^a	3.62 ^a
T4	652.80 ^a	174.26 ^a	78.34 ^b	3.72 ^a

¹ **T1:** Grupo control (sin coccidiostato); **T2:** Grupo con coccidiostato; **T3:** Grupo con 0.25% de harina de yacón (contenido de fructo-oligosacáridos: 37.45g FOS/100g de harina de yacón); **T4:** Grupo con 0.150 ml de aceite de copaiba/kg de alimento.

^{ab}. Valores con letras diferentes en la misma columna son significativamente diferentes (P<0.05).

los grupos de animales que recibieron el T1 y T3. En lo referente a CC en el íleon, el valor más bajo correspondió al grupo de animales bajo los tratamientos T4 y T2.

En general, se puede observar que la altura de las vellosidades van decreciendo acorde los diferentes segmentos del intestino y esto coincide con lo reportado por Martínez (2012) quien reportó reducciones de hasta 30% en cada sección respecto al anterior, entre el duodeno, yeyuno e íleon.

Por otra parte, la profundidad de cripta en el duodeno de animales que recibieron el tratamiento con aceite de copaiba obtuvo una mayor profundidad de cripta ($P < 0.05$). Esta respuesta se debe, probablemente, al efecto cicatrizante de heridas del aceite de copaiba (Arroyo *et al.*, 2009). Sobre el particular, el efecto biológico (agente gastro protector) del aceite de copaiba radicaría en la naturaleza compleja de la mezcla de sesquiterpeno, diterpeno y cariofileno existente en su composición (Nadghia *et al.*, 2013; Arroyo *et al.*, 2009). Un aumento de la profundidad de las criptas podría ser consecuencia de un aumento de la diseminación de la superficie de la vellosidad para generar una mayor renovación celular en la zona apical (Oetting *et al.* 2006). Por lo tanto, en el presente estudio se confirmaría el efecto regenerativo a nivel celular del aceite de copaiba sobre la mucosa del duodeno, indicando un incremento en la actividad mitótica en la cripta. A fin de mantener un adecuado recambio celular en el epitelio del duodeno (Pluske *et al.*, 1997). La inclusión de 0.20% de *S. cerevisiae* en la dieta de pollos incrementó la profundidad de la cripta duodenal y se sugiere que éste puede ser una herramienta importante para mantener la integridad intestinal en pollos vacunados contra coccidia (Luquetti *et al.*, 2012). En el caso de la profundidad de la cripta en el grupo bajo el T2, el valor registrado se debe principalmente a que este tratamiento contenía coccidiostato y éste estaría cumpliendo su función contra las *Eimerias*.

El número de CC tienen como función producir mucus que sirve como lubricación y protección de la mucosa intestinal; sin embargo, la cantidad de mucus producido en un determinado segmento del intestino delgado está en relación directa con la presencia de microorganismos patógenos en dicho segmento (Martinez, 2012; Podolsky *et al.*, 1993). En el presente estudio los tratamientos dietarios influyeron significativamente ($P < 0.05$) sobre el número de CC en el íleon. Correspondiendo el menor valor al grupo que recibió el tratamiento con aceite copaiba (T4) luego a los del T2 (con coccidiostato). En ambos casos, se especula

que el estímulo o la necesidad de producir mayor cantidad de mucus no existía debido a la baja presencia de microorganismos patógenos por la acción del aceite de copaiba o del coccidiostato en las dieta. Lo contrario podría haber ocurrido en los grupos que recibieron las dietas sin coccidiostato (T1) o con harina de yacón (T3). Los resultados observados en este estudio están de acuerdo con lo reportado por Zea (2011) en pollos de carne, quien encontró que el número de CC fue mayor en aves que consumieron dietas sin antibióticos que en aquellas que fueron alimentadas con dietas suplementadas con antibióticos.

V. CONCLUSIONES

Bajo las condiciones en que se llevó a cabo el presente estudio se concluye que:

Los tratamientos dietarios no afectaron la respuesta productiva de las aves durante la fase pre (1 a 14 días de edad) y post inoculación experimental con *Eimerias* (15 a 21 días de edad).

Mayor profundidad de cripta y menor de número de células caliciformes fueron observados en el duodeno e íleon, respectivamente, de animales que fueron alimentados con dietas que contenían aceite de copaiba (0.150 ml/kg de alimento).

La inclusión de harina de yacón, como fuente de fructo-oligosacáridos (0.250%) en la dieta no mostró ninguna acción protectora del intestino delgado en animales infectados experimentalmente con *Eimerias*.

VI. RECOMENDACIONES

En base a los resultados obtenidos en el presente experimento se recomienda:

Investigar el uso de aceite de copaiba en la dieta (a 0.15 ml/kg de alimento) para determinar su efecto sobre la respuesta productiva de pollos de carne criados en situaciones comerciales con historial de presencias de coccidias (ej. cama re-usada)

Investigar el efecto de mayores niveles (que el usado en el presente estudio) de aceite de copaiba sobre la respuesta productiva y morfología intestinal de pollos de carne durante todo el periodo de producción (1 a 42 días de edad).

VII REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

ABBA S. R. Z; COLWELL D. D AND GILLEARD J. 2012 Botanicals: an alternative approach for the control of avian coccidiosis. World's Poultry Science Journal. 68 (2): 203-215.

ADAMS BY. VAHL. H.A. AND VELDMAN A. 1996. Interaction between nutrition and *Eimeria acervulina* infection in broiler chickens: development of an experimental infection mode. British Journal of nutrition. 75: 867-873.

ALCAÍNOHECTOR; GONZÁLEZ JUAN PABLO; FREDES FERNANDO y GORMAN TEXIA. 2002. Coccidias aviares de gallineros industriales de Chile. Parasitol Latinoam 57: 34 – 39.

ALLEN P.C., LYDON J., DANFORTH H. 1997. Effects of components of *Artemisia annua* on coccidian infections in chickens. Poul.Sci. 76: 1156-1163.

ALVAREZ F., PEDRO, JURADO T., BERTHA, CALIXTO C., MARÍA, INCIO V., NELLY, SILVA A., JESÚS. 2008. Prebiótico Inulina/Oligofructosa en la Raíz del Yacón (*Smallanthus sonchifolius*), Fotoquímica y Estandarización como Base de Estudios Pre clínicos y Clínicos Rev. Gastroenteral Perú; 28: 22-27.

ARROYO J.; ALMORA, Y.; QUINO, M.; MARTINEZ, J.; CONDORHAMAN M.; FLORES, M.; BONILLA, P.. 2009. Efecto citoprotector y antisecretor del aceite de *Copaifera officinalis* en lesiones gástricas inducidas en ratas. An Fac. Med.70 (2):89-96.

ASAMI, T.; MINAMISAWA, K.; TSUCHITA, T.; KANO, K.; HORI, I.; OHYAMA, T.; KUBOTA, M.; TSUKIHASSHI, T. 1991. Flutacion of oligofrutanocontens in tuber of yacón (*Polimia Sonchifolia*) during growth and storage. Jpn. J, sol Sci. Plant Nutr., v.62, p.621-7.

BATISTA DE OLIVEIRA, P; MURAKAMI, A.E; DE MORAES GARCIA, E.R; MACARI, M; SCAPINELLO, C. 2000. Influence of antinutritional factors of leucaena (*leucaena leucocephala and leucaena cunningan*) and pigeous bean (*cajanus cajan*) on the intestinal epithelium and performance of broiler chickens. Revista Brasileira de Zootecnia. 29:1759-1769.

BRIGA MIRÓ, JOSÉ.1962. Los aromáticos en la industria moderna; aplicación industrial de las esencias naturales y sintéticas. Segunda edición. Barcelona. pág. 323.

CALLENDER, M.E AND R.F. SHUMAR. 1973. Effect of Monensin and development of enmunity to coccidias. Poul.Sci. 52:2007.

CALZADA B.J. 1982. Métodos estadísticos para la investigación. Quinta edición. Agraria. Lima-Perú.

CAMPOS, D.; BETALLELUZ-PALLARDEL, I.; CHIRINOS, R.; AGUILAR GALVEZ, A.; NORATTO, G.; PEDRESCHI, R. 2012. Prebiotic effects of yacon (*Smallanthus sonchifolius* Poepp. & Endl), a source of fructooligosaccharides and phenolic compounds with antioxidant activity. Food Chemistry 13S:1592-1599.

CARVALHO, S.; TOLEDO, I.; ARAUJO, F. and PEREIRA G. 2004. Fructanos en raíces tuberosas de yacón (*Smallantus sonchifolia* Poepp. & Endl) expuestas al sol y almacenadas bajo condiciones ambientales. Agrociencia 20(1): 17-23.

CHIRINOS, R. 1999. Obtención y caracterización de los oligofruktanos a partir de la raíz del yacón (*Smallanthus sonchifolius* Poepp. & Endl). Tesis para optar el Grado de Magister Scientiae. UNALM. Lima, Perú.

COUSSEMENT, P. A. 1999. Inulin and oligofructose: Safe intakes and legal status. *J.Nutr.*129:1412S-1417S.

DAUGSCHIES. A; BOSE. R.; MARX. J.; TEICH.K; FRIEDHOFF. K.T. 2002. Development and application of a standardized assay for chemical disinfection of coccidia oocysts. *Veterinary Parasitology* 103: 299-308.

DANFORTH D.H Y RUFF.D.M. 1999. Mecanismo de Inducao de Resistencia as Drogas Anticoccidianos. Simposio International sobre coccidiosis Aviana-Foz de Iguazú 9 al 10 marzo 1999.

DIBNER J. J., 1 AND RICHARDS J. D. 2005. Antibiotic Growth Promoters in Agriculture: History and Mode of Action. *Poultry Science* 84:634–643.

EFTERPI CHRISTAKI; PANAGIOTA FLOROU-PANERI; ILIAS GIANNENAS; PAPAZHARIADOU MARGARITA, NIKOLAOS A; BOTSOGLOU A; SPAIS B.A.2004.Effect of a mixture of herbal extracts on broiler chickens infected with *Eimeria tenella*. *Anim. Res.* 53: 137–144

ELLEGARD, L.; ANDERSSON, H. Y BOSAEUS, I. 1997. Inulin and oligofructose do not influence the absorption of cholesterol, and the excretion of cholesterol, Fe, Ca, Mg and bile acids but increases energy excretion in man. A blinded controlled cross-over study in ileostomy subjects. *European Journal of Clinical Nutrition*, 51, pag. 1-5.

EUSEBIO BALCAZAR, P. 2007. Evaluación de la suplementación de extracto de levadura (*Saccharomyces cerevisiae*) en la dieta de pre-inicio sobre el comportamiento

productivo y la morfometría intestinal en pollos de carne. Tesis para optar el título de Ingeniero Zootecnista. UNALM.

FAO/OMS. Food and Agriculture Organization y la Organización Mundial de la Salud. 2005. La necesidad de fortalecer los programas Nacionales de monitoreo del uso de los antimicrobianos en medicina veterinaria. En la Región. 2005. San José de Costa Rica. Conferencia Regional FAO/OMS sobre inocuidad de los alimentos para América y en el Caribe.

FERNANDES NETO, D.; LOPEZ AGUILAR, C.A; SOUZALIMA, KEDSON RAUL; MANNO, M.; B. TAVARES, F; A. O. VIANA, M. 2010. Efeitos dos níveis de inclusão do óleo essencial de copaíba (*Copaiferareticulata*) sobre o desempenho de frangos de corte. 47ª Reuniao Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia.

GEYRA, A; UNI, Z; AND SKLAN D. 2001. Enterocytes dynamics and mucosal development in the posthatch chick. *Poultry Science*.80:776-782.

GIANNENAS. I., FLOROU-PANERI P. PAPAZHARIADOU M. CHRISTAKI E., BOTSOGLOU N.S., SPAIS A.B. 2003. Dietary oregano essential oil supplementation on performance of broilers challenged with *Eimeria tenella*, *Arch. Anim. Nutr.* 57: 99-106.

GIBSON, G.R., ROBERFROID, M.B. 1995. Dietary modulation of the human colonic microbiota: Introducing the concept of prebiotics. *Journal of Nutrition*, 125. Pg. 1401-1412.

GONZALES MENGONI, H. M. 2009. Evaluación de la harina de yacón (*Smallanthus sonchifolius*) como prebiótico en dietas de pavos de engorde. Tesis para optar el título profesional de Médico Veterinario. Lima. Perú. UNMSM. Pg. 81.

HANNA, A. C. DE SOUZA; CRUZ, F. G.; GUIMARAES, R.; JOAO P.; FERREIRA, T.; EWERTON DE SOUZA, CHAGAS, EWETON OLIVEIRA DAS AND MELO, JADILSON BARRONCAS DOS SANTOS. J. 2013. Bioefficacy of the Copaiba Oil (*Copaifera* sp.) in Diets of Laying Hens in the Second Production Cycle in Humid Tropical Climate .Poultry Sci.11: 647-652.

HAYASHI, S.; NONOGUSHI, M.; TKSABI, Y.; UENO, H. Y IMADA, K. 1991. J. Indus. Microbiol, 7, 251.

HERMANN, M.; FREIRE, I AND PAZOS, C. 1999. Compositional diversity of the yacon storage roots. En: CIP Program Report 1997-1998. Perú.

JORDAN. A; CALDWELL. D.J; KLEIN. J; COPPEDGE. J; POHL.S; FITZ-COY. S AND LEE.T.J. 2011. *Eimeria tenella* oocyst shedding and output in cecal or fecal contents following experimental challenge in broilers. Poultry Science 90:990-995.

JUAREZ ESTRADA, M.C. 2007. Efecto de una vacuna anticoccidial sobre parámetros fisiológicos e inmunológicos de pollos de engorda. Veterinaria México. Pg. 303-318.

KAMIL KÜÇÜKYILMAZ; MEHMET BOZKURT; NURAN SELEK; ESIN GÜVEN; HASAN EREN; AYHANATASEVER; EROLBINTA; ABDULLAH U. ÇATLI; MUSTAFA ÇINAR1. 2012. Effects of vaccination against coccidiosis, with and without a specific herbal essential oil blend, on performance, oocyst excretion and serum IBD titers of broilers reared on litter. Italian Journal of Animal Science. Volume 11.

KNUDSEN, K. Y HESSOV, I. 1995. Recovery of inulin from Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) in the small intestine of man. British Journal of Nutrition, 74, 101-113.

KOGA YANAGUI, Y. 2012. Revista Actualidad Avipecuaria (Edición 40 Año 7-2012).

KOYAMA.N.T.G., ROSA A.P., BOEMO L.S., PADILHA M.T.S, SCHER A., BRANCO T. NAD FORGIARINI J.2013. Performance assessment of broiler chickens supplemented with copaiba oil-resin. *J. Anim Prod. Adv* 11:311-317.

LOBO R, A., COLLI C, P. ELIANA, ALVARES AND TULLIA M. C.C.FILISETTI. 2007. Effects of fructans-containing yacon (*Smallanthus sonchifolius* Poepp&Endl) flour on caecum mucosal morphometry, calcium and magnesium balance, and bone calcium retention in growing rats.*British Journal of Nutrition*. 97:776-785.

LOPEZ AGUILAR; C. A, DE SOUZA LIMA; K. R, MANNO, M. C; BARBOSA TAVARES, F; PEREIRA DE SOUZA, V. AND FERNANDES NETO, D. L. 2013. Effect of copaiba essential oil on broiler chickens' performance. *Acta Scientiarum. Animal Sciences*. 35:145-151.

LUQUETTI B. C., FURLA R.L., ALARCON M.F.F., MACAR M. 2012. *Saccharomyces Cerevisiae* cell Wall dietary supplementation on the performance and intestinal mucosa development and integrity of broiler chickens vaccinated against coccidiosis. *Brazilian Journal of Poultry Science*. 14: 71-158.

LUTZ. T and SCHARRER. E. 1991. Effect of short-chain fatty acids on calcium absorption by the rat colon. Institute of Veterinary Physiology, Universidad of Zurich. *Experimental Physiology*, 76, 615-618.

MARTINEZ PATIÑO-PATRONI, D. A. 2012. Evaluación de un producto a base de aceite esencial de orégano sobre la integridad intestinal, la capacidad de absorción de nutrientes y el comportamiento productivo de pollos de carne. Tesis para optar el título de Magister Scientiae en Nutrición. UNALM. Lima-Perú.

MAJOR, P; REVAJORA,V; LEVKUT, M; SEVCIKOVA,Z;
SPISAKOVA,V;FAIXOVA,Z;LEVKUTOVA,M; KOZAROVA,I; GOLDOVA,M;
LEVKUT,M. 2011.Intestinal mucin dynamic and leukocytic responses of chickens
infected with *Eimeria acervulina* and fed oregano supplemented diet. Ata Vet. Brno. 80:
147-156.

MOLIS, C.; FLOURIE, B.; OUARNE, F.; GAILING, M. F. ; LARTIGUE, S. Y
GUIBERT, A. 1996. Digestion, excretion, and energy value of fructooligosaccharides in
healthy humans. American Journal of Clinical Nutrition 64, 324-328.

NADGHIA F., L; SOBRAL-SOUZA, C.; ALBUQUERQUE ROSIMEIRE; BRITO
V.I.DARA; LAVOR K.L.S, ANNE; LISCASSIA B.B, ALENCAR; TINTINO .R,
SAULO; FERREIRA V.A, JOAO; FIGUEREDO G., FERNANDO; LIMA F., LUCIENE;
CUNHA A.B., FRANCISCO; PINHO I., ANTONIO; COUTINHO. D.M., HENRIQUE.
2013. Actividad antiparasitaria in vitro citotóxica de cariofileno y eugenol contra
Trypanosoma cruzi y *Leishmania brasiliensis*. Revista Cubana de Plantas Medicinales.
18(4):522-528.

OETTING LL, UTIYAMA C.E.2006. Efeitos de extracts vegetais e antimicrobianos sobre
a digestibilidade aparente, o desempenho, a morfometria dos orgaos e a histologia
intestinal de leitões recém-desmamados. R.Bras. Zootec. 35 (4):1389-1397.

OHYMA, T., ITO, O., YASUYOSHI, S., IGARASHI, T., MINAMISAWA, K.,
KUBOTA, M., AND ASAMI. 1990. Composition of storage carbohydrate in tubers of
yacon (*Polimnia sonchifolia*). *Soil Sci. Plant Ntr.*, 36, 167-171.

OLIVEIRA DOS SANTOS, A.; UEDA-NAKAMURA, T.; PRADO DIAS FILHO, B.;
DA VEIGA JUNIOR, V. F.; C.PINTO, A. AND VATARU NAKAMURA, C. 2008.
Antimicrobial activity of Brazilian copaiba oils obtained from different species of the
Copaifera genus. Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Vol. 103(3): 277-281.

OLIVEIRA DOS SANTOS, A.; UEDA-NAKAMURA, T.; PRADO DIAS FILHO, B.; FLORÊNCIO DA VEIGA JUNIOR, V. AND VATARU NAKAMURA, C. 2012. Copaiba Oil: An Alternative to Development of New Drugs against Leishmaniasis. Volume 2012, Article ID 898419, 7 pag.

PATRA GAUTAM. M.; AYUB ALI, KN; CHANU VICTORIA, L.; L. JONATHAN; JOY L.K; PRAVA .M; RAVINDRAN R; DAS. G AND INAOTOMBI DEVI.L.2010.PCR bases diagnosis of Eimeria tenella infection in broiler chicken. International Journal of Poultry Science 9(8):813-818.

PEDRESCHI, R., CAMPOS, D., NORATTO, G., CHIRINOS, R. , & CISNEROS-ZEVALLOS, L. 2003. Andean yacon root (*Smallanthus sonchifolius* Poepp. Endl) fructooligosaccharides as a potential novel source of prebiotics. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 51, 5278-5284.

PEEERS, J; DERIJCKE, J; VERLINDEM, M; WYFFERLS, R. 1994. Sensivity of Avian Eimeria spp. to seven chemical and five Ionophor Anticoccidials in five Belgian Integrated Broiler Operations. Avian Dis. 38(3):483-493.

PLUSKE J.R., WILLIAMS I.H., AHERNE F.X.1996. Maitenance of villous height and crypt dept in piglets by providing continuous nutrition after weaning. Animal Science. 62: 131-144.

PODOLSKY, D.K; LYNCH-DEVANEY, K; STOW, J.L; OATES,P ; MURGUE, B;DEBEAUMONT, M; SANDS, B.E; MAHIDA, Y.R. 1993. Identification of human intestinal trefoil factor. The Journal of Biological Chemistry. 268 (9):6694-6702.

POMIANO.D, J. 2000. Interacción de las coccidias y los anticoccidiales en la nutrición del pollo de engorde (Primera parte) .Mundo avícola y porcino N° 33. Perú. Revista. Pg 13-15.

ROBERFROID M.B Y DELZENNE, N. 1993. Dietary fructans. Annual Review Nutrition 18, 117-143.

ROJAS, S.W.1979. Nutrición animal aplicada. UNALM. Lima-Perú. Pg. 169.

ROJO MEDEAVILLA, E. 1999. Enfermedades de las aves. Editorial Trillas, S.A. Tercera reimpresión. Pg 344.

ROLAND, N.; NUGON-BAUDON, L.; ANDRIEUX, C. Y SZYLIT, O. 1995. Comparative study of the fermentative characteristics of inulin and different types of fibre in rats inoculated with a human whole faecal flora. British Journal of Nutrition 74, 239-249. 1995).

SALMINEN, S; ROBERFROID, M; RAMOS, P; FONDEN, R. 1998. Prebiotic substrates and lactic acid bacteria. In: Salminen S, Wright AV, editors. Lactic acid bacteria: microbiology and functional aspects. 2nd Ed. New York: Marcel Dekker. Pg 342-358.

SIKKEMA J., DE BONT J.A.M., POOLMAN B. 1995. Mechanisms of membrane toxicity of hydrocarbons. Microbiol. Rev. 59:201-222.

SUHAIR. R. AI-IDREESI; MAHMOUD KWEIDER AND MAHMAD M. KATRANJI. 2013. Immunization of broiler with dead sporozoites as vaccine against *Eimeria tenella* parasite. International Journal of Poultry Science 12(5):280-288.

TAKASUGY, M. Y MASUDA, T. 1996. Three 4'-hydroxyacetophenone-related phytoalexins from *Polymnia sonchifolia*. Phytochemistry 43(5):1019-1021.

TAKENAKA, M; YAN, X; ONO, H.; YOSHIDA, M; NAGATA, T. AND NAKANISHI, T. 2003. Caffeic acid derivatives in the roots of yacon (*Smallanthus sonchifolius*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51: 793-796.

TIZARD IAN R. 2009. *Introducción a la inmunología veterinaria*. Octava edición. Es una publicación de ELSEVIER. 574 pp.

TOVAR HERNANDEZ, M. 1996. Control de coccidiosis, quimioprofilaxis, planes vacunales. Ventajas e inconvenientes. Universidad Autónoma de Barcelona. *Selecciones Avícolas*. pag. 668-681.

TUNGLAND, B., MEYER, D . 2002. Nondigestible oligo and polysaccharides: their physiology and role in human health and food. *Comprehensive reviews in food science and food safety* 74:73-77.

TUOHY, K. M, PROBERT, H. M., SMEJKAL, C.W. Y GIBSON, G.R. 2003. Using probiotics and prebiotics to improve gut health. *Drugs Discovery Today*, 8, 692-700.

URQUHART. G. M; ARMOUR. J; DUNCAN. J. L; JENNINGS. F. W. 2001. *Parasitología veterinaria*. Segunda edición. Zaragoza-España. Pg.355.

VAN DE BOGAARD, A.; STOBBERINGH, E. 2000. Epidemiology of resistance to antibiotics. Link between animals and humans. *International Journal of Antimicrobial agent*.14:327-335.

VIEIRA CASTEJON, F. 2013. Adição de óleos de copaíba (*Copaifera sp.*) e Sucupira (*Pterodon sp.*) a rações de frangos de corte. Tesis para optar el título de Master en Ciencia Animal. Universidad Federal de Goiás Escuela de Veterinaria y Zootecnia-Programa de Postgrado en ciencia animal. Pg. 65.

WANG Y GIBSON, G.R. 1993.Efectos de la fermentación in vitro del oligofrufructase y de la inulina por las bacterias que crecen en el intestino grande humano. *J,Appl.Bacteriol.* 75:373-380.

WILLIS W.L; ISIKHUEMHEN O.S; MINOR R.C; HURLEY S AND OHIMAIN E.I. 2010.Comparing the Feeding of Fungus Myceliated Grain with Other Anticoccidial Control Measures on Oocyst Excretion of Eimeria Challenged Broilers. *International Journal of Poultry Science.* 9(7):648-651.

XU R.Z; HU H.C; XIA S.M; ZHAN X.A AND WANG Q.M. 2003. Effects of Dietary Fructooligosaccharide on Digestive Enzyme Activities, Intestinal Microflora and Morphology of Male Broilers. *Poultry Science* 82:1030–1036.

YAN, X.; SUZUKI, M.; OHNISHI-KAMEYAMA, M.; SADA, Y.; NAKANISHI, T. AND NAGATA, T. 1999.Extraction and identification of antioxidants in the root of yacon (*Smallanthus sonchifolius*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 47: 4711-4713.

ZEA MENDOZA, O. A. 2011. Efecto de la suplementación con diferentes fuentes de cobre sobre el comportamiento productivo, morfometria intestinal y el nivel de cobre hepático en pollos de carne. Tesis para optar el título de Magister Scientiae en Nutrición. UNALM. Lima-Perú.

VIII ANEXOS

ANEXO I: PESO SEMANALES DE POLLOS (g)

TRATAMIENTOS	PRIMERA SEMANA	SEGUNDA SEMANA	TERCERA SEMANA
T1R1	198.7	521	1024.11
T1R2	192.4	529	1052.1
T1R3	205.7	569.2	1073.3
T2R1	197	524.1	1074
T2R2	200.89	573.38	1068
T2R3	204.1	563.1	1068.67
T3R1	199.1	550	1037.8
T3R2	208.2	564.7	1074.3
T3R3	201.6	548.8	1036
T4R1	191.7	528.6	1044.78
T4R2	201.5	556.8	1067
T4R3	193.3	548	1051.78

PROMEDIOS

TRATAMIENTOS	PRIMERA SEMANA	SEGUNDA SEMANA	TERCERA SEMANA
T1	198.93	539.73	1049.84
T2	200.66	553.53	1070.22
T3	202.97	554.5	1049.37
T4	195.5	544.47	1054.52

ANEXO II: CONSUMO DE ALIMENTO SEMANAL (g).

TRATAMIENTOS	0-14 DIAS	14-21 DIAS
T1R1	675.80	710.33
T1R2	703.30	708.60
T1R3	718.70	748.60
T2R1	682.50	716.54
T2R2	747.46	693.26
T2R3	698.40	650.88
T3R1	709.20	701.80
T3R2	707.80	736.60
T3R3	705.00	714.30
T4R1	679.70	540.89
T4R2	708.40	737.90
T4R3	703.43	735.11

PROMEDIOS

TRATAMIENTOS	0-14 DIAS	14-21 DIAS
T1	699.27	722.51
T2	709.45	686.89
T3	707.33	717.57
T4	697.18	671.30

ANEXO III: GANANCIA DE PESO (g).

TRATAMIENTOS	0-14 DIAS	14-21 DIAS
T1R1	475.70	503.11
T1R2	484.50	523.10
T1R3	524.30	504.10
T2R1	478.80	549.90
T2R2	528.88	494.63
T2R3	519.60	505.57
T3R1	506.30	487.80
T3R2	519.80	509.60
T3R3	504.70	487.20
T4R1	485.30	516.18
T4R2	512.50	510.20
T4R3	503.60	503.78

PROMEDIOS

TRATAMIENTOS	0-14 DIAS	14-21 DIAS
T1	494.83	510.10
T2	509.09	516.70
T3	510.27	494.87
T4	500.47	510.05

ANEXO IV: CONVERSION ALIMENTICIA

TRATAMIENTOS	0-14 DIAS	14-21 DIAS
T1R1	1.42	1.41
T1R2	1.45	1.35
T1R3	1.37	1.49
T2R1	1.43	1.30
T2R2	1.41	1.40
T2R3	1.34	1.29
T3R1	1.40	1.44
T3R2	1.36	1.45
T3R3	1.40	1.47
T4R1	1.40	1.05
T4R2	1.38	1.45
T4R3	1.40	1.46

PROMEDIOS

TRATAMIENTOS	0-14 DIAS	14-21 DIAS
T1	1.41	1.42
T2	1.39	1.33
T3	1.39	1.45
T4	1.39	1.32

ANEXO V: MEDIDAS A NIVEL DEL DUODENO

	ALTURA (μm)	PROFUNDIDAD (μm)	CALICIFORMES	RELACION
T1R1-1	1001.78	253.45	120.21	3.95
T1R1-2	1004.65	195.18	116.43	5.15
T1R2-1	942.86	231.45	127.23	4.07
T1R2-2	1060.87	289.25	157.17	3.67
T1R3-1	1057.05	213.81	121.16	4.94
T1R3-2	963.31	261	109.43	3.69
T2R1-1	1055.88	261.54	142.02	4.04
T2R1-2	823.72	214.45	123.79	3.84
T2R2-1	1000.65	209.75	135.79	4.77
T2R2-2	1008.58	237.39	143.75	4.25
T2R3-1	912.15	273.65	134.67	3.33
T2R3-2	959.24	199.42	170.86	4.81
T3R1-1	989.71	227.63	142.05	4.35
T3R1-2	1196.72	229.58	158.08	5.21
T3R2-1	1152.1	189.01	140.81	6.1
T3R2-2	1160.25	167.76	178.45	6.92
T3R3-1	783.45	228.14	120.13	3.43
T3R3-2	665.77	262.91	118.42	2.53
T4R1-1	1030.09	219.24	123.61	4.7
T4R1-2	730.11	288.64	87.61	2.53
T4R2-1	1195.38	279.7	143.45	4.27
T4R2-2	1258.83	223.65	151.06	5.63
T4R3-1	887.87	283.89	106.54	3.13
T4R3-2	1033.67	248.19	124.04	4.16

ANEXO VI: MEDIDAS A NIVEL DEL YEYUNO

	ALTURA (um)	PROFUNDIDAD (um)	CALICIFORMES	RELACION
T1R1-1	990.53	183.75	180.42	5.39
T1R1-2	753.36	275.91	151.59	2.73
T1R2-1	948.85	286.78	131.11	3.31
T1R2-2	771.49	224.29	107.36	3.44
T1R3-1	833.44	205.33	112.57	4.06
T1R3-2	935.98	230.59	149.78	4.06
T2R1-1	1143.71	327.17	170.57	3.5
T2R1-2	1074.57	259.93	87.38	4.13
T2R2-1	956.19	272.4	149.59	3.51
T2R2-2	836.18	213.37	126.25	3.92
T2R3-1	756.5	244.83	138.88	3.09
T2R3-2	1016.75	237.7	156.1	4.28
T3R1-1	830.91	182.24	106.92	4.56
T3R1-2	915.57	189.46	133.97	4.83
T3R2-1	1062.57	223.41	151.75	4.76
T3R2-2	730.89	224.24	118.37	3.26
T3R3-1	1032.61	252.88	185.98	4.08
T3R3-2	862.56	227.68	160.98	3.79
T4R1-1	722.09	247	86.65	2.92
T4R1-2	947.48	238.75	113.7	3.97
T4R2-1	1029.33	321.44	123.52	3.2
T4R2-2	1045.5	209.75	125.46	4.98
T4R3-1	953.67	247.1	114.44	3.86
T4R3-2	918.12	220.15	110.17	4.17

ANEXO VII: MEDIDAS A NIVEL DEL ÍLEON

	ALTURA (um)	PROFUNDIDAD (um)	CALICIFORMES	RELACION
T1R1-1	500.59	179.67	74.12	2.79
T1R1-2	718.13	170.98	105.76	4.2
T1R2-1	521.92	214.23	84.69	2.44
T1R2-2	626.7	161.86	110.7	3.87
T1R3-1	547.98	201.74	100.04	2.72
T1R3-2	737.25	296.18	129.36	2.49
T2R1-1	474.33	181.44	71.92	2.61
T2R1-2	728.04	203.95	94.45	3.57
T2R2-1	644.19	213.9	96.76	3.01
T2R2-2	574.26	183.96	76.2	3.12
T2R3-1	671.08	176.41	96.91	3.8
T2R3-2	1159.77	182	152.16	6.37
T3R1-1	607.01	161.71	112.04	3.75
T3R1-2	836.34	215.7	124.75	3.88
T3R2-1	518.24	160.09	84.16	3.24
T3R2-2	592.9	171.11	111	3.46
T3R3-1	519.15	147.19	91.64	3.53
T3R3-2	844.3	218.99	168.86	3.86
T4R1-1	392.92	143.66	47.15	2.73
T4R1-2	494.6	176	59.35	2.81
T4R2-1	917.02	202.26	110.04	4.53
T4R2-2	784.59	209.38	94.15	3.75
T4R3-1	725.31	176.52	87.04	4.11
T4R3-2	602.64	138.34	72.32	4.36

ANEXO VIII: OOQUISTE EXCRETADOS POR GRAMO DE HECES

Grupo	Ooquites/g. heces
T1R1	6100
T1R2	22800
T1R3	7300
T2R1	10900
T2R2	2850
T2R3	4400
T3R1	11050
T3R2	15950
T3R3	12950
T4R1	9650
T4R2	6600
T4R3	7300

ANEXO IX: INÓCULO DE COCCIDIA

a.- Origen del inóculo

Vacuna comercial Immucox[®] for Chickens II, Vetech Laboratories. Contiene cepas vivas no atenuadas de aislamientos de campo de *E. acervulina*, *E. máxima*, *E. tenella*, *E. necatrix* y *E. brunetti* con una concentración total no menor a 2×10^5 oocistos vivos.

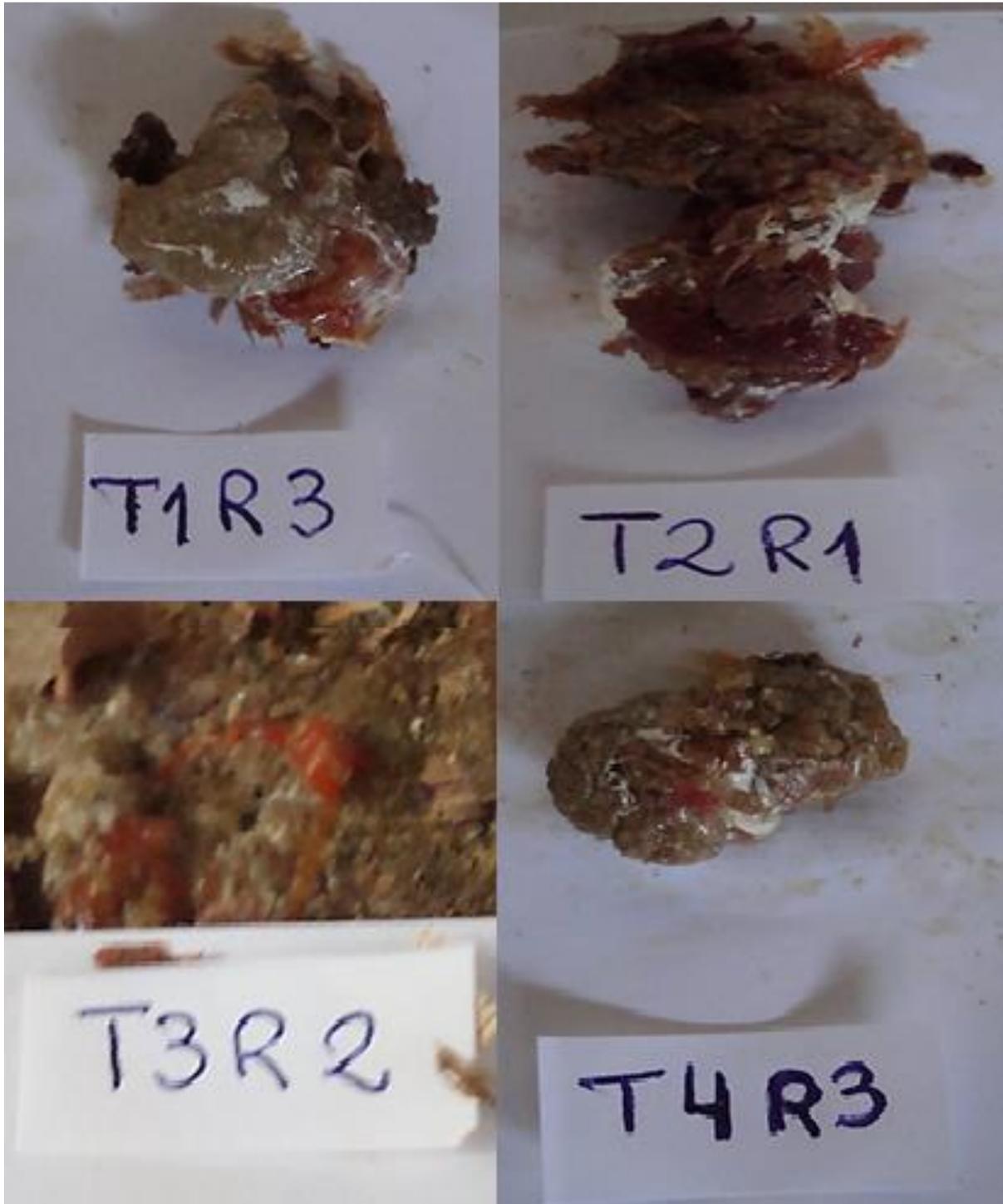
b.- Preparación

Se diluyo frascos de 1000 dosis en 300 ml de agua destilada por frasco y se añadió a la preparación 3 ml del colorante provisto con la vacuna para facilitar el control durante el proceso de aplicación. La preparación se realizó en el Laboratorio de Investigación en Nutrición y Alimentación de Aves (LINAA) de la Universidad Nacional Agraria La Molina.

c.- Administración

En el día 14 de edad a cada pollo se administró 3 ml de la preparación equivalente a 10 dosis, vía oro-ingluvial, empleando cánulas adheridas a jeringas hipodérmicas desechables de 5 ml sin aguja.

ANEXO X: HECES CON DESCAMACIONES DE LA MUCOSA INTESTINAL AL SEGUNDO DÍA DE INOCULACIÓN CON *EIMERIAS*.



ANEXO XI : LESIONES INTESTINALES EN POLLOS INOCULADOS CON *EIMERIA*(T1)



**ANEXO XII: LESIONES INTESTINALES EN POLLOS INOCULADOS
CON *EIMERIA* (T2)**



**ANEXO XIII: LESIONES INTESTINALES EN POLLOS INOCULADOS
CON *EIMERIA* (T3)**



ANEXO XIV: LESIONES INTESTINALES EN POLLOS INOCULADOS CON *EIMERIA* (T4)

