



UADY

POSGRADO
INSTITUCIONAL
EN CIENCIAS
AGROPECUARIAS Y
MANEJO DE RECURSOS
NATURALES TROPICALES

**Uso de extracto etanólico del fruto de
Enterolobium cyclocarpum (Jacq.) Griseb como
anticcoidal en pollos Leghorn**

TESIS

**PRESENTADA COMO REQUISITO
PARA OBTENER EL GRADO DE**

MAESTRA EN CIENCIAS AGROPECUARIAS

POR

Médico Veterinario Zootecnista

Rosalinda de Fatima Urtecho Novelo



POSGRADO INSTITUCIONAL
CIENCIAS AGROPECUARIAS Y MANEJO
DE RECURSOS NATURALES TROPICALES

Directores:

Dr. Ronald Santos Ricalde

Dr. Luis Sarmiento Franco

Dr. Felipe Torres Acosta

Mérida, Yuc., México, septiembre de 2019



UADY
UNIVERSIDAD
AUTÓNOMA
DE YUCATÁN

**COORDINACIÓN GENERAL
DEL SISTEMA DE POSGRADO,
INVESTIGACIÓN Y VINCULACIÓN**

POSGRADO INSTITUCIONAL EN CIENCIAS
AGROPECUARIAS Y MANEJO DE RECURSOS
NATURALES TROPICALES

**ALUMNA: MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA
ROSALINDA DE FATIMA URTECHO NOVELO**

SÍNODO DEL EXAMEN DE TESIS DE GRADO

**DR. CARLOS SANDOVAL CASTRO
CCBA-UADY**

**DR. JOSÉ ALBERTO ROSADO AGUILAR
CCBA-UADY**

**DR. JOSÉ SEGURA CORREA
CCBA-UADY**

**DR. ROGER IVÁN RODRÍGUEZ VIVAS
CCBA-UADY**

**DR. EDWIN GUTIÉRREZ RUIZ
CCBA-UADY**

MÉRIDA, YUCATÁN, SEPTIEMBRE DEL 2019

Declaratoria de originalidad

El presente trabajo no ha sido aceptado o empleado para el otorgamiento de título o grado diferente o adicional al actual. La tesis es resultado de las investigaciones del autor, excepto donde se indican las fuentes de información consultadas. El autor otorga su consentimiento a la UADY para la reproducción del documento con el fin del intercambio bibliotecario siempre y cuando se indique la fuente.

MVZ. Rosalinda de Fatima Urtecho Novelo

Agradecimientos

A Dios, que movió los hilos del destino y confeccionó el escenario perfecto para el logro de ésta meta.

A mi mejor amiga y madre María Rosalinda, que con paciencia me acompañó durante todo el proceso de elaboración de la tesis, y con su ejemplo me mostró el camino adecuado, sin sus enseñanzas no sería lo que ahora soy, ni habría conseguido lo que tengo. A mis hermanos Manuel Alejandro, Luisa Margarita y Diana Guadalupe por estar conmigo en las buenas, malas y peores, por el apoyo y paciencia durante todo éste tiempo. Mi gran familia, gracias por estar conmigo.

A mis asesores, quienes con su apoyo, conocimientos y respaldo hicieron posible éste trabajo de investigación. Al Dr. Ronald Santos Ricalde, quien demostró su compromiso y dedicación en el asesoramiento para la elaboración de un pertinente trabajo de investigación, por medio de sus importantes comentarios, aportaciones y sugerencias, así como su constante inversión en tiempo.

Al Dr. Luis Sarmiento Franco, que con su conocimiento y sabiduría enriqueció el trabajo de investigación, sin sus valiosas aportaciones no hubiera sido lo mismo, le agradezco su inestimable guía durante todo el proceso, por la confianza que tuvo en mí, el continuo aliento que me dio para seguir adelante, por su paciencia y por brindarme su distinguida y grata amistad.

De igual manera, le agradezco al Dr. Felipe Torres Acosta por compartir su notable conocimiento a través de sus comentarios y aportaciones, que contribuyeron en la adecuada construcción del trabajo de investigación.

A mis tutores de tesis, Dr. Carlos Sandoval Castro por su apoyo incondicional en el cumplimiento de ésta meta, al Dr. Alberto Rosado Aguilar y al Dr. José Segura Correa por dar seguimiento al trabajo y realizar las aportaciones pertinentes.

A todos aquellos que directa e indirectamente contribuyeron en la elaboración del presente trabajo de investigación.

Resumen

Se realizaron dos experimentos para evaluar el efecto anticoccidial del extracto etanólico del fruto de *Enterolobium cyclocarpum* (EC) en el alimento de pollos Leghorn. En ambos experimentos, se infectó a las aves con 11,000 ooquistes esporulados atenuados de *Eimeria* spp. En el primer experimento, se evaluó el extracto cuando la infección estaba en período patente, y en el segundo, con la infección en período pre-patente y patente.

En el experimento uno se emplearon cinco tratamientos; tres con EC (150, 300 y 450 mg/kg de alimento), con decoquinato (C) y sin anticoccidial (SC). Los tratamientos se ofrecieron del día cinco al catorce post-infección. Se midió el número de ooquistes en heces, consumo de alimento y peso vivo. El día 14 post-infección los tratamientos con EC eliminaron menos ooquistes en comparación con el tratamiento SC ($P < 0.05$). Los resultados obtenidos indican que la inclusión de EC no afectó el consumo de alimento, pero redujo el peso vivo. En el experimento dos se utilizaron seis tratamientos, cinco idénticos a los del primer experimento, y un tratamiento con polietilenglicol en el nivel 300 mg/kg de EC (E300PEG). Los tratamientos se ofrecieron cinco días antes de infectar a las aves hasta el día trece post-infección. El día 13 post-infección, los tratamientos con EC y E300PEG eliminaron cantidades semejantes de ooquistes que el tratamiento C ($P > 0.05$), sin embargo, se observó una reducción significativa en comparación con el tratamiento SC ($P < 0.05$). El consumo de alimento no se afectó por la utilización de los tratamientos con EC, sin embargo, la ganancia de peso fue menor en comparación con el tratamiento C ($P < 0.05$). Los tratamientos E300PEG y C tuvieron ganancias de peso similares ($P > 0.05$). Los resultados obtenidos sugieren que el uso del tratamiento E300PEG redujo la excreción de ooquistes y mejoró la ganancia de peso, demostrando resultados semejantes al tratamiento C.

Palabras clave

Pollos, *Eimeria* spp., extracto etanólico, *Enterolobium cyclocarpum*, anticoccidial.

SUMMARY

Two experiments were performed to evaluate the anticoccidial effect of ethanolic extract from the fruit of *Enterolobium cyclocarpum* (EC) in feed of Leghorn chickens. In both, the birds were infected with 11,000 attenuated sporulated oocysts of *Eimeria* spp. In the first experiment, the extract was evaluated in a patent period of infection. In the second, in pre-patent and patent period of infection.

In experiment 1 five treatments were used; three with EC (150, 300 and 450 mg/kg of feed), with decoquinate (C) and without anticoccidial (W) we used. The treatments were offered on days five to fourteen post-infection. Oocysts in faeces, feed intake and live weight were determined. The treatments with EC showed lower elimination of oocysts compared to the treatment WA on day 14 post-infection ($P < 0.05$). The EC did not affect feed intake ($P > 0.05$), but, reduced live weight gain ($P < 0.05$). Results shown that EC treatments were effective to reduce oocysts excretion on day 14, however, live weight gain was affected negatively. In experiment 2: six treatments were used, five identical to those of the first experiment, and one more with polyethylene glycol in 300 mg kg of EC treatment (E300PEG). The treatments were offered five days before infecting the birds until day thirteen post-infection. The EC and E300PEG treatments showed oocyst elimination similar to treatment C on day 13 post-infection ($P > 0.05$), nevertheless, less than WA ($P < 0.05$). Feed intake was not affected in EC treatments ($P > 0.05$), however, a reduction of live weight was observed in comparison with SC treatment ($P < 0.05$). The E300PEG and C treatment had similar live weight gain ($P > 0.05$). Results suggests that utilization of E300PEG reduce oocysts excretion and improve live weight gain, showed similar results to C treatment.

Keywords

Chickens, *Eimeria* spp., ethanolic extract, *Enterolobium cyclocarpum*, anticoccidial.

ÍNDICE

I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. MARCO TEÓRICO.....	3
2.1. La coccidiosis aviar.....	3
2.1.1. Etiología.....	3
2.1.2. Especies de <i>Eimeria</i> en pollos	3
2.1.3. Signos clínicos de las especies importantes de <i>Eimeria</i> spp.....	5
2.1.4. Comportamiento productivo de pollos infectados con <i>Eimeria</i> spp.....	5
2.2. Estrategias de control de la coccidiosis en pollos.....	6
2.2.1. Fármacos de efecto anticoccidial incluidos en el alimento.....	6
2.2.2. Uso de plantas con efecto anticoccidial como alternativa de control.....	8
2.3. <i>Enterolobium cyclocarpum</i> (Jacq.) Griseb.....	12
2.3.1. <i>E. cyclocarpum</i> como posible planta con potencial anticoccidial.....	14
2.3.2. Componentes del <i>E. cyclocarpum</i> de importancia contra <i>Eimeria</i>	14
2.3.2.1. Saponinas.....	14
2.3.2.1.1. Propiedades de las saponinas.....	15
2.3.2.1.2. Saponinas de <i>Enterolobium cyclocarpum</i>	16
2.3.2.2. Compuestos fenólicos.....	16
2.3.2.2.1. Propiedades de los compuestos fenólicos.....	17
2.3.2.2.2. Compuestos fenólicos de <i>Enterolobium cyclocarpum</i>	18
III. HIPÓTESIS.....	19
IV. OBJETIVOS.....	19
4.1. Objetivo general.....	19
4.2. Objetivos específicos.....	19
V. REFERENCIAS.....	20
ARTÍCULO CIENTÍFICO.....	33

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Sitio de lesión, tamaño y forma del ooquiste según la especie de <i>Eimeria</i>	4
Cuadro 2. Período pre-patente, patogenicidad e inmunogenicidad según la especie de <i>Eimeria</i>	4
Cuadro 3. Modo de acción de anticoccidiales empleados en pollos.....	7
Cuadro 4. Casos de resistencia del parásito <i>Eimeria</i> a anticoccidiales.....	8
Cuadro 5. Composición del fruto de <i>Enterolobium cyclocarpum</i>	13

I. INTRODUCCIÓN

Desde la década de los 40's en la industria avícola se implementó el uso de fármacos cuyo efecto para controlar, ya sea regulando o eliminando en su totalidad, al protozoario *Eimeria* spp. resultó útil para evitar la enfermedad que éste parásito ocasiona; la coccidiosis (McDougald y Fitz, 2008; Peek y Landman, 2011; Abbas *et al.*, 2011). Hasta tiempos recientes, el uso de fármacos anticoccidiales, incluidos en el alimento de los pollos, es la manera más común de controlar a *Eimeria* spp. (Witcombe y Smith, 2014). Impedir la presencia de coccidiosis en un lote de pollos se traduce en desempeños productivos pertinentes, evitando consecuencias como retraso en el crecimiento, incremento en la conversión alimenticia y mortalidad excesiva (Kostadinovic *et al.*, 2015; Swaggerty *et al.*, 2015).

Sin embargo, el uso inadecuado, desmedido e inconsciente de fármacos anticoccidiales provocó que, a tan sólo unos años de su aparición, comenzarán a reportarse casos de resistencia del parásito (De Gussem, 2007; Abbas *et al.*, 2011; Witcombe y Smith, 2014). En 2016, la Federación de Veterinarios de Europa planteó vigilar el uso de anticoccidiales. Adicionalmente, en la actualidad, los consumidores siendo más conscientes de la posible presencia de residuos de fármacos en los alimentos de origen animal prefieren adquirir productos orgánicos o más "naturales" (Cervantes, 2015). Lo anterior, ha desencadenado el interés en conocer plantas con compuestos secundarios que pueden ser una fuente alternativa de aditivos para mejorar la salud animal y los resultados productivos (Wallace *et al.*, 2010).

En avicultura, se ha considerado el uso de plantas que poseen sustancias bioactivas que manifiestan efecto contra *Eimeria* spp. cuando son incluidas en la dieta de pollos (Jang *et al.*, 2007; Naidoo *et al.*, 2008; Hassan *et al.*, 2008; Kostadinovic *et al.*, 2015), ya sea en forma de harina (Brisibe *et al.*, 2008; Hassan

et al., 2008) o de extracto en el alimento (Youn y Noh, 2001; Naidoo *et al.*, 2008), o en el agua de bebida de las aves (Youn y Noh, 2001).

De la composición de las plantas, lo valioso se encuentra en los componentes que manifiestan actividad contra protozoarios, como la *Eimeria* spp., siendo que compuestos antioxidantes como flavonoides, papaína, ácidos grasos omega 3 y taninos, los afectan debido a que inducen estrés oxidativo (Abbas *et al.*, 2012a). Adicionalmente, las saponinas provocan la muerte de protozoarios debido a que interactúan uniéndose a las moléculas de esterol de la superficie de la membrana de dichos organismos (McAllister *et al.*, 2001; Francis *et al.*, 2002), situación confirmada con la reducción del número de protozoarios ciliados de líquido ruminal (Koenig *et al.*, 2007; Mao *et al.*, 2010).

Relacionado con lo anterior, se tiene que el *Enterolobium cyclocarpum* (EC) es una planta rica en saponinas que ha demostrado actividad defaunante (Lazos-Balbuena, 2016; Albores-Moreno *et al.*, 2017). Sin embargo, no existen estudios acerca de su efecto sobre *Eimeria* en aves de corral. El extracto metanólico de las hojas y el extracto etanólico del fruto de EC han manifestado actividad *in vitro* contra protozoarios ruminales (Hess *et al.*, 2003; Monforte-Briceño *et al.*, 2005). El efecto de los extractos mencionados se atribuye a la presencia de saponinas, fenoles y taninos condensados (Hess *et al.*, 2003; Monforte-Briceño *et al.*, 2005).

Ante esto surge la siguiente incógnita: ¿El extracto etanólico del fruto de *Enterolobium cyclocarpum* tendrá efecto contra *Eimeria* spp. en pollos?, esto con la intención de poder emplearlo como una alternativa no convencional para el control de la coccidiosis aviar. Por lo tanto, el presente trabajo tiene como objetivo evaluar el efecto anticoccidial del extracto etanólico del fruto de *E. cyclocarpum* sobre el número de ooquistes en heces, lesiones macroscópicas en intestino, el consumo de alimento y el peso vivo en aves.

II. MARCO TEÓRICO

2.1. La coccidiosis aviar

2.1.1. Etiología

La coccidiosis es una enfermedad infecciosa ocasionada por un protozooario intracelular del phylum Apicomplexa, cuyos miembros de género son *Eimeria*, *Isospora* y *Cryptospora*, siendo su sitio de reproducción el tracto intestinal (Kostadinovic *et al.*, 2015; Swaggerty *et al.*, 2015).

En aves, las especies del género *Eimeria* spp. viven en el citoplasma y se nutren por ósmosis en la célula hospedera a la cual destruyen al multiplicarse. El ooquiste, es la fase infectante, tiene dos membranas, la externa de fosfolípidos y ácidos grasos, y la interna de proteínas y glucoproteínas, adicionalmente, posee una pared con tres capas (McDougald y Fitz, 2008; Moreno, 2009; Quiroz y Dantán, 2015). Las diferentes especies del parásito provocan diarrea, retraso en el crecimiento, incremento en la conversión alimenticia y la mortalidad, ocasionando grandes pérdidas económicas en la industria avícola (Peek y Landman, 2011; Kostadinovic *et al.*, 2015; Swaggerty *et al.*, 2015).

Sharman *et al.* (2010) y Abbas *et al.* (2012a) mencionan que los casos de coccidiosis tienen distribución mundial. En México, la enfermedad está presente en las zonas avícolas, es decir, en los estados de Sinaloa, Nuevo León, Jalisco, Guanajuato, Querétaro, México, Morelos, Veracruz, Tabasco, Chiapas y Yucatán, entre otros (Moreno, 2009).

2.1.2. Especies de *Eimeria* en pollos

Las especies de *Eimeria* spp. causantes de la coccidiosis en pollos son: *E. acervulina*, *E. tenella*, *E. maxima*, *E. brunetti*, *E. mitis*, *E. necatrix* y *E. praecox*,

cada una con características propias (McDougald y Fitz, 2008; Sharman *et al.*, 2010; Witcombe y Smith, 2014), que se presentan en los cuadros 1 y 2.

Cuadro 1. Sitio de lesión, tamaño y forma del ooquiste según la especie de *Eimeria*

Especie	Sitio de la lesión	Tamaño del ooquiste (µm)		Forma
		Longitud	Ancho	
<i>E. tenella</i>	Ciego	19.5-26.0	16.5-22.8	Ovoide
<i>E. acervulina</i>	Duodeno, íleon	17.7-20.2	13.7-16.3	Ovoide
<i>E. necatrix</i>	Intestino medio	13.2-22.7	11.3-18.3	Ovoidal
<i>E. maxima</i>	Intestino medio	21.5-42.5	16.5-29.8	Ovoide
<i>E. mitis</i>	Intestino anterior	11.7-18.7	11.0-18.0	Subesférico
<i>E. praecox</i>	Intestino anterior	19.8-24.7	15.7-19.8	Ovoide
<i>E. brunetti</i>	Intestino bajo	20.7-30.3	18.1-24.2	Ovoide

*Basado en Levine (1995), Kostadinovic *et al.* (2015).

Cuadro 2. Período pre-patente, patogenicidad e inmunogenicidad según la especie de *Eimeria*

Especie	Período pre-patente (días)	Patogenicidad	Inmunogenicidad
<i>E. tenella</i>	6	Alta a severa	Baja
<i>E. acervulina</i>	4	Moderada a alta	Moderada
<i>E. necatrix</i>	6	Moderada a alta	Baja
<i>E. maxima</i>	5-6	Moderada	Alta a severa
<i>E. mitis</i>	4-5	Baja	Moderada
<i>E. praecox</i>	4	Baja	Moderada
<i>E. brunetti</i>	5	Moderada	Alta

*Basado en Levine (1995), Witcombe y Smith (2014), Kostadinovic, *et al.* (2015).

De acuerdo a su grado de patogenicidad, en México son cuatro especies las más importantes: *E. tenella*, *E. acervulina*, *E. brunetti* y *E. maxima* (Moreno, 2009). En el estado de Morelos, Gay *et al.* (2009) lograron detectar, identificar y diferenciar a *E. máxima*, *E. acervulina*, *E. tenella* y *E. praecox*. Por su parte, Moreno e Ibarra (2002) reportan que en el estado de Veracruz se encontró la presencia de *E. Tenella* (57%), *E. acervulina* (17%), *E. brunetti* (13%) y *E. maxima* (13%).

En Yucatán, Rodríguez *et al.* (2001) evaluaron 211 muestras de heces fecales de aves de corral, y encontraron parásitos gastrointestinales con prevalencias de:

Eimeria spp. (53.08%), *Heterakis* sp. (15.17%), *Ascaridia* sp. (15.16%) y *Capilaria* sp. (6.63%). Por otra parte, Gutiérrez-Triay, *et al.* (2007) mencionan que en un municipio de Yucatán entre las principales causas de mortalidad en aves de traspatio se encuentran: catarro (67.3%), viruela (30.4%) y diarrea (28.4%), recordando que uno de los principales signos clínicos de la coccidiosis es la diarrea (Kostadinovic *et al.* 2015; Swaggerty *et al.*, 2015).

2.1.3. Signos clínicos de las especies importantes de *Eimeria* spp.

En la industria avícola, las especies de *Eimeria* spp. de mayor importancia son *E. tenella*, *E. acervulina* y *E. maxima* (Ogedengbe *et al.*, 2011; Quiroz y Dantán, 2015). *E. tenella*, es la especie más conocida en pollos, habita y lesiona el ciego (Swaggerty *et al.*, 2015). Caracterizada por la presencia de heces con sangre, pérdida de pigmentación en piel e incremento de la mortalidad de 5 a 6 días post-infección y grandes pérdidas de peso 7 días post-infección (Pop *et al.*, 2015). Por su parte, *E. acervulina*, es la especie más común, produce lesiones blancas en la parte superior del intestino delgado de las aves (Pop *et al.*, 2015; Swaggerty *et al.*, 2015), los signos que produce son heces acuosas con mucosidad (4 días post-infección), pérdida de carotenoides y xantofilas, en sangre y piel respectivamente, a causa de una mala absorción (McDougald y Fitz, 2008). Finalmente, *E. máxima*, produce petequias en la parte media del intestino delgado dirigiéndose hacia la parte baja del duodeno pasando al divertículo del saco vitelino, y en infecciones severas puede extenderse por todo el intestino delgado (Swaggerty *et al.*, 2015). Infecciones de 50-200 x10³ ooquistes provocan diarrea. De 5 a 8 días post-infección, los ooquistes que se liberan del enterocito ocasionan daños severos a los tejidos (Pop *et al.*, 2015).

2.1.4. Comportamiento productivo de pollos infectados con *Eimeria* spp.

La presencia de *Eimeria* spp. en los lotes de aves, provoca deficiencias en los parámetros productivos, con principal énfasis en bajas ganancias de peso y cambios en la conversión alimenticia y mortalidad (De Gussem, 2007;

Kostadinovic *et al.* 2015; Swaggerty *et al.*, 2015). Las guías de manejo de pollo de engorda, nos proporcionan los valores adecuados de los parámetros productivos para las líneas genéticas de manera específica, por lo tanto, los cambios observados en el lote deben ser comparadas con dichos documentos.

Eimeria tenella provoca alta mortalidad y morbilidad, pérdidas de peso y emaciación en las aves (Pop *et al.*, 2015). *E. acervulina*, provoca reducción en las ganancias de peso, proporcionales a la dosis de infección. Infecciones severas resultan en muertes, e infecciones moderadas se manifiestan en pérdidas de peso y elevada conversión alimenticia (McDougald y Fitz, 2008). Infecciones de 50-200 x10³ ooquistes de *E. máxima*, provocan baja ganancia de peso, morbilidad y en ocasiones mortalidad. Con una ingesta de 100,000 ooquistes, se puede producir un 30% de mortalidad en pollos de 5 semanas de edad (Pop *et al.*, 2015).

2.2. Estrategias de control de la coccidiosis en pollos

Los brotes de coccidiosis pueden prevenirse con una adecuada cuarentena, desinfección y sanitización de la caseta (Swaggerty *et al.*, 2015). Sin embargo, los ooquistes pueden estar presentes en el corral, principalmente en camas húmedas, y pueden ser más numerosos entre las 3 y 5 semanas de edad de los pollos (McDougald y Fitz, 2008). Por lo tanto, se debe procurar mantener el número de los mismos en una cantidad que no provoque un brote, hasta que el hospedero tenga una inmunidad suficiente, para responder adecuadamente a infecciones severas (Kostadinovic *et al.*, 2015).

Los programas de control de coccidiosis en pollos, se basan principalmente en la inclusión de anticoccidial en el alimento (Peek y Landman, 2011). En algunos casos, se emplean vacunas con ooquistes vivos o atenuados (Quiroz y Dantán, 2015; Györke *et al.*, 2016). Recientemente, la atención se ha dirigido al estudio de plantas con componentes bioactivos que muestran efecto anticoccidial cuando son incluidos en el alimento (De Pablos *et al.*, 2010; Ahad *et al.*, 2017; Wang *et al.*, 2017).

2.2.1. Fármacos de efecto anticoccidial incluidos en el alimento

Comúnmente se emplean fármacos anticoccidiales (coccidicida o coccidiostato) en la crianza de pollos (Witcombe y Smith, 2014). Su aparición en la industria avícola fue en la década de los 40's primero con la inclusión de sulfonamidas en el alimento, luego aparecieron ionóforos, quinolonas, amprolium, nicarbazina, robenidina, entre otros (Peek y Landman, 2011; Abbas *et al.*, 2011). El modo de acción de los fármacos se basa en cambios en el metabolismo, síntesis, nutrición u homeostasis del parásito (McDougald y Fitz, 2008; Abbas *et al.*, 2011; Quiroz y Dantán, 2015). En el cuadro 3 se especifican los modos de acción de anticoccidiales empleados en la producción avícola.

Cuadro 3. Modo de acción de anticoccidiales empleados en pollos

Fármaco	Acción	Modo de acción	Fase del ciclo que afecta	Especie estudiada
Sulfonamidas	Coccidiostato	Competencia por incorporación del PABA ¹ Inhibición de la síntesis del ácido fólico	Segunda y última generación de esquizontes	<i>E. tenella</i>
Amprolium	Coccidiostato	Análogo de la tiamina; competencia por la absorción de la misma	Segunda generación de esquizontes	<i>E. tenella</i>
Decoquinato	Coccidiostato	Inhibición de la respiración por bloqueo de transporte de electrones en la mitocondria del parásito	Esporozoítos	<i>E. tenella</i>
Clopidol	Coccidiostato	Afecta el transporte de electrones	Esporozoítos	<i>E. tenella</i>
Benzenoaminas	Coccidiostato	Desacoplamiento o estrés oxidativo	Esporozoítos	Varias especies
Monensina sódica	Coccidiostato	Fosforilación	Esporozoítos	<i>E. tenella</i>
Robenidina	Coccidiostato	Afluencia de iones de sodio Enlaza proteínas y provoca el desacoplamiento de las mitocondrias del parásito	Múltiples estadios	Varias especies
Halofuginona	Coccidicida	Alcaloide, se sospecha que suprime la producción de oocistos	Estadios asexuales	Varias especies
Salomicina y Ionóforos	Coccidiostato	Transporte catiónico a través de la membrana celular	Esporozoítos y merozoítos	Varias especies
Diclazuril	Coccidiostato	Análogo de nucleótido	Estadios sexuales y asexuales	<i>E. tenella</i>
Toltrazuril	Coccidiostato	Acción contra genoma. Altera la cadena respiratoria. Afecta a enzimas involucradas en síntesis de pirimidina (parásito)	Múltiples estadios	Varias especies

*Basado en Abbas *et al.* (2011) y Bozkurt *et al.* (2013).

¹ PABA: Ácido para-Aminobenzoico

Es recomendable la rotación del fármaco, procurando emplear aquellos con diferentes modos de acción (programas duales o de rotación), para evitar situaciones de resistencia a los mismos o residuos químicos en la carne (Swaggerty *et al.*, 2015). Por su parte, la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA, 2008) menciona fármacos anticoccidiales autorizados, en dosis, tiempos de uso y tiempos de retiro.

No obstante, el uso descontrolado e irracional de fármacos anticoccidiales ha provocado reducción de la sensibilidad y aumento en la resistencia a los mismos, además de que pudiesen quedar residuos en la carne (De Gussem, 2007; Abbas *et al.*, 2011; Witcombe y Smith, 2014). Desde hace varios años existen reportes de resistencia de *Eimeria* spp. a los fármacos usualmente empleados en el alimento de pollos (ver Cuadro 4), es por ello que se plantea como una necesidad evitar el uso de fármacos para controlar la coccidiosis.

Cuadro 4. Casos de resistencia del parásito *Eimeria* a anticoccidiales

Fármaco	Año de introducción	País en que se observó resistencia	Año en que se observó resistencia
Sulfaquinoxalina	1948	EUA, India	1954, 1979
Nitrofurazona	1948	EUA, India	1955, 1979
Nitracarbazina	1955	Gran Bretaña, India, Alemania	1964, 1979, 1997
Amprolio	1960	Gran Bretaña, India	1964, 1979
Cloripol	1966	India	1979
Monensina	1971	EUA, Gran Bretaña, Alemania	1974, 1982, 1997
Robenidina	1972	EUA, Alemania	1974, 1997
Halofuginona	1975	Francia, Alemania	1986, 1997
Lasolacida	1976	EUA	1977
Salinomicina	1983	EUA, Alemania, India, Pakistán	1989, 1997, 2001, 2008
Narasina	1977	EUA	1977
Diclazuril	1990	Brasil, Alemania	1994, 1997
Toltrazuril	1986	Holanda, Alemania	1993, 1997

*Basado en Abbas *et al.* (2011), Witcombe y Smith (2014).

En México, las sustancias más usadas para evitar la coccidiosis son las sulfas (Sulfaquinoxalina, Sulfacloropiridazina, Sulfadimidina), el Amprolio y el Toltrazuril (Bafundo, 2009).

2.2.2. Uso de plantas con efecto anticoccidial como alternativa de control

Los reportes de resistencia a fármacos comerciales de efecto anticoccidial, conjugado con las nuevas exigencias del mercado por productos más naturales, han llevado a la búsqueda de alternativas no convencionales, siendo el empleo de insumos regionales una opción atractiva (Abbas *et al.*, 2012b; Bozkurt *et al.*, 2013; Kostadinovic *et al.*, 2015; Quiroz y Dantán, 2015). El interés se encuentra en el estudio de plantas con componentes bioactivos que muestran efecto anticoccidial cuando son incluidos en el alimento de pollos (Jang *et al.*, 2007; Hassan *et al.*, 2008; De Pablos *et al.*, 2010; Ahad *et al.*, 2017).

Por su parte, Jang *et al.* (2007), probaron la eficacia de *Camellia sinensis*, planta que contiene compuestos polifenólicos (catequinas: epicatequina, galato de epicatequina, epigalocatequina y galato de epigalocatequina) en pollos machos de siete semanas de edad. La inclusión (0.5% y 2.0%) de las hojas contra la infección de *E. maxima*, tuvo una limitada reducción en la excreción de ooquistes en heces y no mejoró las ganancias de peso.

Asimismo, Brisibe *et al.* (2008) estudiaron el efecto de la inclusión de dos niveles (10 % y 20 %) de harina de hojas de *Artemisia annua* en pollos Leghorn infectados el día 7 de edad con *E. tenella*. Encontraron un efecto semejante a fármacos anticoccidiales (amprolio) en pollos en cuanto a número de ooquistes y a ganancia de peso, ya que no se encontró diferencia significativa entre grupos, aunque los pollos suplementados con harina de hojas de *A. annua* tuvieron mejores consumos de alimento.

Se han estudiado los extractos de acetona de las hojas y ramas de *Artemisia afra* (150 mg/Kg), hojas de *Combretum woodii* (210 mg/Kg) y fragmentos de la planta entera de *Tulbaghia violacea* (35 mg/Kg), en una infección artificial de *E. tenella*, *E. maxima* y *E. acervulina* (100,000 ooquistes/ave) en pollos (Naidoo *et al.*, 2008). Cuando las aves manifestaron signos clínicos de coccidiosis se les ofreció vía oral 1ml/ave por cinco días en comparación con el uso por dos días de 20 mg/kg vía oral de toltrazuril. Encontraron que el grupo de aves que consumieron *T. violacea*

tuvo conversiones alimenticias ligeramente elevadas con respecto al fármaco comercial, pero logró reducir el número de ooquistes en heces, sin embargo, éste efecto desapareció cuando se suspendió el tratamiento.

La suplementación con 0.1%, 0.3% y 0.5% de harina de *Aloe vera* en pollos de 3 días de edad, redujo significativamente las lesiones en intestino y el número de ooquistes de *E. maxima*, sugiriendo que ocurrió una interacción con células intermediarias de la respuesta inmune que contribuyeron a la formación de anticuerpos durante la infección por coccidias (Yim *et al.*, 2011).

De igual manera, se han evaluado tres tipos de extracto (en hexano, metanol y agua) de la cáscara de fruta de *Punica granatum*, en pollos de 19 días de edad infectados artificialmente contra *E. tenella* (4,000 ooquistes/ave), a los cuales se les inocularon diferentes dosis de los extractos en el día 6, 7, 8 y 9 post-infección. Se encontró que el extracto crudo metanólico de la cáscara de fruta de *P. granatum* manifestó eficacia significativa en comparación con el fármaco comercial amprolio, a una dosis de 300 mg/kg de peso vivo, reduciendo el número de ooquistes, manteniendo una conversión alimenticia semejante a dicho fármaco, sin embargo, manifestó ganancias de peso ligeramente inferiores que con el uso de amprolio (Ahad *et al.*, 2017).

Por su parte, Bozkurt *et al.* (2013), Kostadinovic *et al.* (2015) y Quiroz y Dantán (2015), han realizado reseñas de trabajos realizados con plantas y sus componentes que presentan actividad contra diferentes especies de *Eimeria* spp. en pollos, de acuerdo con los estudios a los que hacen referencia, entre las sustancias o productos químicos sintetizados por las plantas que manifiestan actividad contra *Eimeria* spp. se encuentran; artemisinina, alicina, fenoles, papaína, ácido maslínico, berberina, flavonoides, taninos condensados, saponinas, entre otros.

De acuerdo con Abbas *et al.* (2012a), compuestos antioxidantes como la betaína, flavonoides, papaína, ácidos grasos omega 3 y taninos, pueden ser letales para

Eimeria debido a que inducen estrés oxidativo, y al menos para el caso de *E. tenella*, los ooquistes esporulados y los esporozoitos son deficientes de enzima superoxidasa.

Las saponinas son relevantes, debido a que, como mencionan Francis *et al.* (2002) y McAllister *et al.* (2001), manifiestan actividad antiprotozoaria, presumiblemente, debido a que interactúan uniéndose a las moléculas de esterol presentes en las superficies de la membrana de las células protozoarias, de tal forma que provocan la muerte del organismo. En el mismo sentido, Wina *et al.* (2005) afirman que la interacción saponina-colesterol en las membranas celulares de protozoarios ruminales es lo que provoca la ruptura de la célula. La interacción entre saponina-esteroles provoca la desestabilización de la membrana celular e incrementa su permeabilidad (Price *et al.*, 1987; Gee y Johnson, 1988). Adicionalmente, Abbas *et al.* (2012b) mencionan que las saponinas esteroidales de la *Yucca schidigera* tiene actividad surfactante, de tal manera que reducen la tensión superficial de los fluidos promoviendo una mejor absorción de nutrientes por el epitelio intestinal.

Hassan *et al.* (2008) incluyeron un 5% de harina de *Gyamopsis tetragonoloba*, fabácea con altos niveles de saponinas, en el alimento de pollos infectados artificialmente con *Eimeria tenella* (5000 ooquistes) a los 10 días de edad por vía oral, se hicieron recolectas de heces del día 6 al 10 después de la infección, encontrando una reducción en el número de ooquistes excretados y la diarrea sanguinolenta en heces, sin afectar la ganancia de peso ni la conversión alimenticia.

Rambozzi *et al.* (2011) evaluaron el potencial del extracto comercial de saponinas *Yucca shidigera* en terneros de 7-18 meses de edad infectados naturalmente con *Eimeria* spp. en comparación con monensina sódica, se realizaron 5 mediciones de ooquistes en heces con intervalos de 15 días entre ellas, y peso vivo al día 0 y 75 de infección. Se encontró que a una dosis de 15 g/animal/día de extracto de

saponinas *Yucca shidigera* ofrecida en el alimento reduce el número de ooquistes por gramo de heces de manera semejante a la monensina sódica, sin embargo, los animales que consumieron monensina sódica tuvieron mejores ganancias de peso.

El efecto de extracto comercial de saponinas de *Quillaja saponaria*, se evaluó empleado tres niveles de inclusión (125 ppm, 250 ppm y 500 ppm) en el agua de bebida de pollos de 11 días de edad, y tres días después fueron infectados artificialmente con 15 veces la dosis recomendada de una vacuna comercial que contenía *E. acervulina*, *E. brunetti*, *E. maxima*, *E. necatrix* y *E. tenella*, encontrando mayor reducción en el número de ooquistes por gramo de heces con la dosis de 250 ppm, en comparación con los otros dos niveles, en los días 8 y 9 post-infección, y en las lesiones macroscópicas del intestino de las aves (Espejo, 2014).

Con base en la información mencionada, se sugiere que las plantas cuyos metabolitos secundarios funcionan como compuestos bioactivos, como las saponinas, flavonoides, fenoles y taninos condensados, entre otros, pueden ser una alternativa en el control de la coccidiosis en pollos (Bozkurt *et al.*, 2013; Kostadinovic *et al.*, 2015; Quiroz y Dantán, 2015). Inclusive, a nivel comercial existen productos reconocidos como aditivos alimentarios, que son resultado de la combinación de diversas plantas que contienen componentes bioactivos con efecto coccidicida o coccidiostato: Cocci-Guard (DPI Global, USA), una fórmula que contiene *Quercus infectoria*, *Rhus chinensis* y *Terminalia chebula* (Kemin Industries, USA), Apacox (GreenVet, Italy) y BP fórmula a base de *Bidens pilosa* y otras plantas (Ta-Fong Inc., Taiwan).

2.3. *Enterolobium cyclocarpum* (Jacq.) Griseb

El *Enterolobium cyclocarpum* es una de las especies de leguminosas más importantes en el trópico americano, es una fuente potencial de proteínas (Barrientos *et al.*, 2015). En México, se encuentra a lo largo del Golfo de México

desde Tamaulipas hasta Yucatán y en la costa del Pacífico desde Sinaloa hasta Chiapas (Serratos *et al.*, 2008).

El árbol desprende sus frutos en forma de vaina ancha, aplanada, curva e indehisciente durante los meses de abril, mayo y junio, teniendo una producción anual de 725 kg. Las semillas maduras tienen una testa dura e impermeable (Jiménez-Hernández, 2011; Albores-Moreno *et al.*, 2017). El fruto maduro completo puede ser consumido por rumiantes en pastoreo, y cuando es cocido puede incluirse como alimento para animales monogástricos (Jiménez-Hernández, 2011). Los frutos y las hojas se emplean tanto para alimento de animales como para uso humano, éste último lo usa como combustible o herramientas, y en forma cocida y tostada o cocida al vapor logra ingerirlo (Serratos *et al.*, 2008).

En la semilla se reporta un 36% de proteína cruda, con un rango de 112 a 266 g/kg de materia seca, fibra detergente neutro de entre 283 a 515 g/kg de materia seca (Monforte-Briceño *et al.*, 2005). En las semillas y en el follaje se encuentran factores antinutricionales como inhibidores de tripsina, glucósidos cianogénicos y saponinas (Sotelo *et al.*, 1980; Aguilar y Zolla, 1982). La composición química del fruto de *E. cyclocarpum* que ha sido estudiada, se presenta en el Cuadro 5.

Cuadro 5. Composición del fruto de *Enterolobium cyclocarpum*

Componente	Cantidad	Referencia
Materia seca	90.5 %	Álvarez <i>et al.</i> (2003)
	73 %	Serratos <i>et al.</i> (2008)
	90.9 %	García-Montes de Oca <i>et al.</i> (2011)
	96 %	Albores-Moreno <i>et al.</i> (2017)
Proteína cruda	17.2 %	Álvarez <i>et al.</i> (2003)
	26.3 %	Serratos <i>et al.</i> (2008)
	16.6 %	García-Montes de Oca <i>et al.</i> (2011)
	164g/Kg (MS)	Kú-Vera <i>et al.</i> (2013)
Fibra cruda	19.5 %	Hernández-Morales <i>et al.</i> (2018)
	10.3 %	Álvarez <i>et al.</i> (2003)
	4.9 %	Serratos <i>et al.</i> (2008)
Fibra Detergente Neutro	36.10 %	García-Montes de Oca <i>et al.</i> (2011)
	339g/Kg (MS)	Kú-Vera <i>et al.</i> (2013)
	30.09 %	Albores-Moreno <i>et al.</i> (2017)
Fibra Detergente Ácido	28.38 %	Hernández-Morales <i>et al.</i> (2018)
	26.2 %	García-Montes de Oca <i>et al.</i> (2011)
	221g/Kg (MS)	Kú-Vera <i>et al.</i> (2013)

	20.4 %	Hernández-Morales <i>et al.</i> (2018)
Lignina	10.7 %	García-Montes de Oca <i>et al.</i> (2011)
	8.99 %	Albores-Moreno <i>et al.</i> (2017)
Extracto etéreo	2.37 %	Velasco <i>et al.</i> (1997)*Sólo vaina
	2.8 %	Serratos <i>et al.</i> (2008)
Extracto libre de nitrógeno	64.9 %	Velasco <i>et al.</i> (1997) *Sólo vaina
	63.1 %	Serratos <i>et al.</i> (2008)
Cenizas	2.9 %	Serratos <i>et al.</i> (2008)
	4.13 %	Hernández-Morales <i>et al.</i> (2018)
Saponinas	19 mg/g (MS)	Hess <i>et al.</i> (2003)
	33 mg/g (MS)	Canul (2015)
	29mg/g (MS)	Albores-Moreno <i>et al.</i> (2017)
Taninos condensados	52 mg/g (MS)	Hess <i>et al.</i> (2003)

2.3.1. *E. cyclocarpum* como posible planta con potencial anticoccidial

Hasta el momento, Ivan *et al.* (2004) han evaluado la actividad antiprotozoal del follaje de *Enterolobium cyclocarpum* en pruebas *in vitro* e *in vivo* en rumiantes, en el primer caso se presentó una reducción de un 20-95 % en el número de protozoarios, en la prueba *in vivo* en donde se suplementó con 200 g de hojas secas de *E. cyclocarpum* en 1kg de alimento, se observó una reducción de protozoarios de 49-75 %.

Por otra parte, Hess *et al.* (2003) evaluaron *in vitro* el extracto etanólico de los frutos del *Enterolobium cyclocarpum* y el de otras dos plantas ricas en saponinas (*Sapindus saponaria* y *Pithecellobium saman*) en protozoarios encontrados en líquido ruminal, empleando una concentración de 200 mg/g (saponinas, 19 mg/g) de extracto de fruto de *E. cyclocarpum*, encontrando que provocó una reducción de protozoarios menor que *Sapindus saponaria*, cuyo contenido en saponinas es el doble, sin embargo, dicho efecto pudiera haber sido provocado por un posible enmascaramiento dado el mayor suministro de nutrientes, en forma de azúcares, en estas dietas en comparación con la dieta control, que no poseía ninguna inclusión de saponinas.

2.3.2. Componentes del *E. cyclocarpum* de importancia contra *Eimeria*

2.3.2.1. Saponinas

Las saponinas son compuestos secundarios de ciertos animales marinos, y de algunas plantas, funcionan como barrera de protección (Jörg *et al.*, 2011), su principal característica es su sabor amargo (Francis *et al.*, 2002; Moghimipour *et al.*, 2014).

Las saponinas son glucósidos conformados por un azúcar (D-glucosa, D-galactosa, ácido D-glucorónico, D-xilosa, L-ramnosa o metilpentosa, L-arabinosa) unida por un enlace glucosídico, en uno o dos sitios de glucosilación a una porción sin azúcar denominada aglicona hidrófoba (sapogenina), la cual puede ser triterpenoide (C30) o esteroide (C27) (Francis *et al.*, 2002; Moghimipour *et al.*, 2014; Netala *et al.*, 2015).

Las saponinas se clasifican en triterpenoides, esteroides o glucoalcaloides esteroides, de acuerdo con la naturaleza de su aglicona, asimismo, de acuerdo al número de cadenas de azúcar unidas a su aglicona, se clasifican en monodesmosídicas (C3), didesmosídicas (C26:C8) y tridesmosídico (Francis *et al.*, 2002; Netala *et al.*, 2015). La aglicona contiene uno o más enlaces de carbono insaturados (Francis *et al.*, 2002; Wina *et al.*, 2005; Moghimipour *et al.*, 2014). La variabilidad de la estructura de la aglicona, las cadenas laterales y la posición de unión del azúcar en la aglicona, ocasiona la diversidad en la complejidad de la saponina (Sen *et al.*, 1998; Francis *et al.*, 2002; Moghimipour *et al.*, 2014).

2.3.2.1.1. Propiedades de las saponinas

Cuando se encuentran en forma de agliconas, sin la presencia de su porción de azúcar, se denominan sapogeninas, estando en ésta forma manifiestan su principal característica; su capacidad para formar espumas semejantes al jabón, cuando se les adiciona un grupo hidrofílico a uno hidrofóbico, situación provocada por su naturaleza anfifílica (Ávalos-García y Pérez-Urria, 2009; Jörg *et al.*, 2011; Khan *et al.*, 2012). Adicionalmente, funcionan como humectantes y emulsionantes, y algunas saponinas son el punto de partida para la semisíntesis de fármacos esteroides (Estrada *et al.*, 2004; Sparg *et al.*, 2004).

De igual manera, Passos (2005) y Yu *et al.* (2012) mencionan que las saponinas poseen propiedades lipofílicas que le otorgan la característica de interactuar con moléculas de colesterol para formar micelas. Por su parte, Barr *et al.* (1998), han sugerido que las saponinas podrían ser una fuente de monosacáridos. Adicionalmente, Yu *et al.* (2012) mencionan que su alto peso molecular (> 500 Da) provoca una pobre absorción a nivel intestinal, y manifiestan una excreción lenta en la bilis, en ratas se observan vidas medias de eliminación de entre 7 y 25 horas.

Asimismo, las saponinas manifiestan propiedades antimicrobianas (Saleem *et al.*, 2010; Aqel *et al.*, 2012), antimicóticas (Yang *et al.*, 2006; Moghimipour *et al.*, 2014), antiinflamatorias (Yassin *et al.*, 2013; Lande *et al.*, 2015; Wang *et al.*, 2017), antitrombocíticas (Zhai *et al.*, 2017), antitumorales (Sanoj *et al.*, 2010), antidiabéticas (Singh *et al.*, 2014; Elekofehinti, 2015), hemolíticas y citotóxicas (Thakur *et al.*, 2011; Soltani *et al.*, 2014) e hipercolesterolémicas (Afrose *et al.*, 2010).

2.3.2.1.2. Saponinas de *Enterolobium cyclocarpum*

En pulpa y cáscara de la vaina o fruto del *Enterolobium cyclocarpum* se encuentran disponibles saponinas triterpénicas o triterpenos (de tipo ácido lactónico machaerínico) y la corteza contiene veracruzol (24-norolean-5-en-3-ol) que es un triterpeno de tipo ácido betulínico que se obtiene de la hidrólisis de las saponinas (Domínguez *et al.*, 1979; Serratos, *et al.*, 2008). El análisis fitoquímico revela que la planta entera posee saponinas de tipo inespecífico o hemolítico (Mahran *et al.*, 1980) y son de tipo triterpénicas (Roa, 2016). Por su parte, Babayemi (2006) menciona que los sitios que contienen saponinas en su estructura son, de mayor a menor nivel; las hojas, la vaina y las semillas. Sin embargo, las saponinas contenidas en el *E. cyclocarpum* no han sido totalmente aisladas ni identificadas (Wina *et al.*, 2005).

Canul (2015) menciona que el fruto del *E. cyclocarpum*, tiene una concentración de saponinas de 33 mg/g MS, en análisis realizado a muestras experimentales que recolectó para llevar a cabo su estudio. Por su parte, Albores-Moreno *et al.* (2017) mencionan que en un kilogramo de vainas *E. cyclocarpum*, se obtienen 960 g de MS, y en ésta fracción hay 27.84 g (29 mg/g MS) de saponinas crudas. Otros autores, reportan una concentración de saponinas de 19 mg/kg MS en el fruto (Hess *et al.*, 2003), y de 130 mg/g MS en las hojas de *E. cyclocarpum* (Navas-Camacho *et al.*, 1994).

2.3.2.2. Compuestos fenólicos

En las plantas, los compuestos fenólicos poseen una estructura que se encuentra conjugada con uno o más azúcares y ácidos orgánicos unidos a grupos hidroxilo (Pandey y Rizvi, 2009), y poseen en su estructura al menos un anillo aromático unido a uno o más de los grupos hidroxilo (Mercado-Mercado *et al.*, 2013). Asimismo, pueden encontrarse libres como agliconas, pueden ser desde simples de bajo peso molecular, e. g. compuestos aromáticos simples, hasta grandes y complejos taninos y polifenoles derivados, que se clasifican en flavonoides y no-flavonoides de acuerdo con el número y posición de los átomos de carbono (Crozier *et al.*, 2007; Stagos *et al.*, 2012). Los ácidos fenólicos, los flavonoides y los taninos se consideran los principales compuestos fenólicos en las dietas (Mercado-Mercado *et al.*, 2013; Minatel *et al.*, 2017).

Por su parte, los taninos, pueden unirse a las proteínas y minerales del alimento, reduciendo su digestibilidad y absorción (Hagerman, 2012; Naumann *et al.*, 2017; Shirmohammadli *et al.*, 2018). En cuanto a los taninos condensados, éstos resultan de la condensación de unidades de flavan-3-oles, tales como la catequina, que tienden a polimerizarse (Mercado-Mercado *et al.*, 2013). Los taninos condensados, se caracterizan por lograr unirse y precipitar las proteínas de colágeno en las pieles de animales, lo cual las hace más resistentes a la putrefacción (Crozier *et al.*, 2007).

Los compuestos fenólicos manifiestan potencial antioxidante, que presumiblemente contribuye a la reducción de la oxidación lipídica en tejidos animales y vegetales (Minatel *et al.*, 2017). Sin embargo, aún es necesario esclarecer, para comprender, el proceso de absorción de los compuestos polifenólicos y su metabolismo, evaluando su habilidad y metabolismo en el intestino, así como describir los mecanismos moleculares de acción en sistemas biológicos (Makkar, 2003).

2.3.2.2.1. Propiedades de los compuestos fenólicos

Entre las propiedades benéficas de los compuestos fenólicos están la protección contra lesiones celulares, inhibición del crecimiento de tumores, activación de los sistemas de detoxificación hepáticos y bloqueo de las vías metabólicas que pueden ocasionar carcinogénesis (Mercado-Mercado *et al.*, 2013).

Dietas ricas en polifenoles son empleadas, en humanos, como protección contra el desarrollo de cáncer, enfermedades cardiovasculares, diabetes, osteoporosis y enfermedades neurodegenerativas (Graf *et al.*, 2005; Pandey y Rizvi, 2009).

Los taninos condensados, son compuestos fenólicos que han sido estudiados en alimentación animal debido a que manifiestan efectos benéficos, como antiparasitarios en cabras y borregos (Alonso-Díaz *et al.*, 2010; Hoste *et al.*, 2011), o efectos adversos, debido a su capacidad de enlazar y precipitar proteínas solubles formando complejos (Hagerman, 2012; Naumann *et al.*, 2017), dependiendo de la especie y estado fisiológico del animal, así como de la estructura y concentración de dichos metabolitos secundarios (Makkar, 2003). El polietilenglicol (PEG) es un polímero hidrofílico que ha sido empleado para evaluar la participación de los compuestos polifenólicos en la bioactividad de extractos (Makkar, 2003), debido a que “secuestra” a los taninos formando complejos con ellos que resultan indigestibles y no absorbibles (Montiel *et al.*, 2012).

2.3.2.2.2. Compuestos fenólicos de *Enterolobium cyclocarpum*

Martínez *et al.* (2012), mencionan que el duramen del árbol de *E. cyclocarpum* es el sitio en el que se encuentran compuestos fenólicos. Por su parte, Hess *et al.* (2003), encontraron una concentración de 52 mg/g (MS) de taninos condensados en el extracto etanólico del fruto completo.

III. HIPÓTESIS

El extracto etanólico del fruto de *Enterolobium cyclocarpum*, en la dieta de pollos Leghorn, reducirá el número de ooquistes en heces y las lesiones macroscópicas en el intestino, mejorando el consumo de alimento y la ganancia de peso.

IV. OBJETIVOS

4.1. Objetivo general

Evaluar el efecto anticoccidial del extracto etanólico del fruto de *Enterolobium cyclocarpum*, sobre el número de ooquistes en heces, lesiones macroscópicas en intestino, el consumo de alimento y la ganancia de peso de pollos Leghorn.

4.2. Objetivos específicos

1.- Evaluar el efecto anticoccidial de extracto etanólico del fruto de *Enterolobium cyclocarpum* (150, 300 y 450 mg/kg de alimento), incluido en la dieta de pollos Leghorn cinco días posteriores a la infección con *Eimeria* spp., sobre el número de ooquistes en heces, consumo de alimento y ganancia de peso.

2.- Evaluar el efecto anticoccidial de extracto etanólico del fruto de *Enterolobium cyclocarpum* (150, 300 y 450 mg/kg de alimento), incluido en la dieta de pollos Leghorn desde cinco días previos a la infección con *Eimeria* spp., sobre el número de ooquistes en heces, lesiones macroscópicas, consumo de alimento y ganancia de peso.

V. REFERENCIAS

- Abbas, R., Iqbal, Z., Khan, A., Sindhu, Z., Khan, J., Khan, M. and Raza, A. (2012a). Options for Integrated Strategies for the Control of Avian Coccidiosis. *International Journal Of Agriculture & Biology*, 14: 1014–1020. ISSN Online 1814–9596.
- Abbas, R., Iqbal, Z., Blake, D., Khan, M. and Saleemi, M. (2011). Anticoccidial drug resistance in fowl coccidian: the state of play revisited. *World's Poultry Science Journal*, 67, 337-350. Doi: 10.1017/S004393391100033X
- Abbas, R.Z., Colwell, D.D., Gilleard, J. (2012b). Botanicals: An alternative approach for the control of avian coccidiosis. *World Poultry Science*, 68(2): 203 - 215. Doi: 10.1017/S0043933912000268.
- Afrose, S., Hossain, S., Salma, U., Miah, A. and Tsujii, H. (2010). Dietary Karaya Saponin and *Rhodobacter capsulatus* Exert Hypocholesterolemic Effects by Suppression of Hepatic Cholesterol Synthesis and Promotion of Bile Acid Synthesis in Laying Hens. *Cholesterol*. Doi:10.1155/2010/272731

- Aguilar, A. y Zolla, C. (1982). Plantas tóxicas de México. Unidad de Investigación Biomédica en Medicina Tradicional y Herbolaria Instituto Mexicano del Seguro Social. México. ISBN: 968-824-149-0.
- Ahad, S., Tanveer, S., Nawchoo, I., Malik, T. (2017). Anticoccidial activity of *Artemisia vestita* (Anthemideae, Asteraceae)- a traditional herb growing in the Western Himalayas, Kashmir, India. *Microbial Pathogenesis*, 104, 289-295. Doi: 10.1016/j.micpath.2017.01.053
- Albores-Moreno, S., Alayón-Gamboa, J. A., Ayala-Burgos, A. J., Solorio-Sánchez, F. J., Aguilar-Pérez, C. F., Olivera-Castillo, L. and Ku-Vera, J. C. (2017). Effects of feeding ground pods of *Enterolobium cyclocarpum* Jacq. Griseb on dry matter intake, rumen fermentation, and enteric methane production by Pelibuey sheep fed tropical grass. *Tropical Animal Health and Production*, 49(4), 857–866. Doi: 10.1007/s11250-017-1275-y
- Alonso-Díaz, M.A., Torres-Acosta, J.F.J., Sandoval-Castro, C.A. and Hoste, H. (2010) Tannins in tropical tree fodders fed to small ruminants: a friendly foe? *Small Ruminant Research*, 89, 164–173. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2009.12.040>
- Álvarez, G., Melgarejo, L. and Castañeda, Y. (2003). Weight gain, feed conversion and efficiency in sheep fed with *Enterolobium cyclocarpum* tree (*Enterolobium cyclocarpum*) fruit (seed and pod) and poultry manure. *Veterinaria México* 34:39-46. Consultado en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=42334104>
- Aqel, H., Al-Charchafchi, F. and Ghazzawi, D. (2012). Biochemical, antibacterial and antifungal activity of extracts from *Achillea fragrantissima* and evaluation of volatile oil composition. *Der Pharmacia Sinica*, 3(3):349-356. ISSN-0976-8688.
- Ávalos-García, A. y Perez-Urria, E. (2009). Metabolismo secundario de las plantas. *Revista Reduca. Serie Fisiológica Vegetal*. 2(3):119-145. Consultado en: www.revistareduca.es/index.php/biologia/article/view/798

- Babayemi, O.J. (2006) Antinutritional factors, nutritive value and in vitro gas production of foliage and fruit of *Enterolobium cyclocarpum*. World Journal of Zoology, 1(2):113-117. ISSN-1817-3098.
- Bafundo, K. (2009). Manual de enfermedades sistémicas de las aves domésticas. Compiladores versión multimedia. Consultado en: <https://issuu.com/ingallsh/docs/manuea09>
- Barr, I., Sjölander, A. and Cox, J. (1998). ISCOMs and other saponin based adjuvants. Advanced Drug Delivery Reviews, 32(3), 247-271. PII: S0169-409X(98)00013-1
- Barrientos, L., Vargas, J., Segura, M., Manríquez, R. and López, F. (2015). Nutritional evaluation of mature seeds of *Enterolobium cyclocarpum* (parota) from diverse ecological zones in western México. Bosque, 36(1), 95-103. Doi: 10.4067/S0717-92002015000100010
- Bozkurt, M., Giannenas, I., Küçükyılmaz, K., Christaki, E. and Florou-Paneri, P. (2013). An update on approaches to controlling coccidia in poultry using botanical extracts. British Poultry Science, 54(6), 713-727. Doi:10.1080/00071668.2013.849795
- Brisibe, E.A., Umoren, E.U., Owai, P.U. and Brisibe, F. (2008). Dietary inclusion of dried *Artemisia annua* leaves for management of coccidiosis and growth enhancement in chickens. African Journal of Biotechnology, 7: 4083-4092. ISSN-1684-5315.
- Canul, J. (2015). Efecto del consumo de follaje y frutos de árboles tropicales que contienen saponinas sobre la emisión de metano entérico en rumiantes. Tesis de doctorado. Universidad Autónoma de Yucatán. México.
- Cervantes, H. (2015). Antibiotic-free poultry production: Is it sustainable?. The Journal of Applied Poultry Research, 24(1): 91-97. Doi: 10.3382/japr/pfv006
- Crozier, A., Jaganath, I. and Clifford, M. (2007). Phenols, Polyphenols and Tannins: An Overview, Chapter 1. Plant Secondary Metabolites. Doi: 10.1002/9780470988558.ch1

- De Gussem, M. (2007). Coccidiosis in poultry: review on diagnosis, control, prevention and interaction with overall gut health. 16th European Symposium on Poultry Nutrition.
- De Pablos, L., Brazil, M., Garcia-Granados, E., Parra, A. and Osuna, A. (2010). Anticoccidial activity of maslinic acid against infection with *Eimeria tenella* in chickens. Parasitology Research. 107:601–604. Doi: 10.1007/s00436-010-1901-3
- Domínguez, X.A., Franco, R., Pugliese, O., Escobar, N. and Jaen, J.A. (1979). Medicinal plants of México. XXXV. Chemical study of Guanacaste or Parota (*Enterolobium cyclocarpum* Jacq.) a legume, bark and fruit. Revista Latinoamericana de Química 10: 46 - 48.
- Elekofehinti, O. (2015). Saponins: Anti-diabetic principles from medicinal plants - A review. Pathophysiology, 22(2):95-103. Doi: 10.1016/j.pathophys.2015.02.001
- Espejo, R. (2014). Evaluación experimental de las saponinas del Quillay (*Quillaja saponaria*) como inhibidoras del desarrollo de coccidias intestinales en pollos de engorda. Tesis de maestría. Santiago, Chile.
- European Food Safety Authority (EFSA). (2008). On the use of coccidiostats and histomonostats as feed additives on Report from the commission to the council and the European parliament. Consultado en: https://ec.europa.eu/food/sites/food/files/safety/docs/animal-feed-fa-er-report-coccs-233-2008_en.pdf
- Francis, G., Kerem, Z., Makkar, H. P. S. and Becker, K. (2002). The biological action of saponins in animal systems: a review. British Journal of Nutrition, 88(6), 587-605. Doi: 10.1079/BJN2002725
- García-Montes de Oca, C., González-Ronquillo, M., Salem, A., Romero-Bernal, J., Pedraza, J. and Estrada, J. (2011). Chemical composition and in vitro gas production of some legume browse species in subtropical areas of México. Short Note. Tropical and Subtropical Agroecosystems, 14:589 – 595. Consultado en: <http://www.redalyc.org/pdf/939/93918231022.pdf>

- Gay, G., Jasso, V. López, A., López, A. Rodríguez, C., Rojsa, R., Falcón, N., Jiménez, O., Oviedo, O, Ramos, A., Vichido, C., Hernández, R., Medina, S. y Pérez, R. (2009). Estandarización de la técnica de la Reacción en cadena de la Polimerasa Acoplada a la región amplificada de secuencia caracterizada (PCR-SCAR) para la identificación y diferenciación de cuatro especies de *Eimeria* en aves. Ponencia del cartel en el VIII Congreso nacional de Parasitología Veterinaria. Mérida, Yucatán, México.
- Gee, J. and Johnson, I. (1988). Interactions between hemolytic saponins, bile salts and small intestinal mucosa in the rat. *The Journal of Nutrition*, 118:1391-1397.
- Graf, B. Milbury, P. and Blumberg J., Flavonols, flavones, flavanones, and human health: epidemiological evidence. (2005). Flavonols, flavones, flavanones, and human health: epidemiological evidence. *Journal of medical Food*, 8(3):281-90. Doi: 10.1089/jmf.2005.8.281
- Gutiérrez-Triay, M., Segura-Correa, J., López-Burgos, L., Santos-Flores, J., Santos Ricalde, R., Sarmiento-Franco, L., Carvajal-Hernández, M. y Molina-Canul, G. (2007). Características de la avicultura de traspatio en el Municipio de Tetiz, Yucatán, México. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 7(3), 217-224. Doi: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=93970308>
- Györke, A., Kalmár, Z., Pop, L. and Şuteu, O. (2016). The economic impact of infection with *Eimeria* spp. in broiler farms from Romania. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 45(5), 273-280. Doi: 10.1590/S1806-92902016000500010
- Hagerman, A. E. (2012). Fifty years of polyphenol-protein complexes. p.71-97. In: *Recent advances in polyphenol research*. vol. 3. 3rd ed. Cheynier, V.; Sarni-Manchado, P. and Quideau, eds. John Wiley & Sons, Ltd., Oxford, UK. Recuperado en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1002/9781118299753.ch3>
- Hassan, S., El-Gayar, A., Cadwell, D., Bailey, C. and Cartwright, A. (2008). Guar meal ameliorates *Eimeria tenella* infection in broiler chicks. *Veterinary Parasitology*, 157, 133-138. Doi: 10.1016/j.vetpar.2008.07.005

- Hernández-Morales, J., Sánchez-Santillán, P., Torres-Salado, N., Herrera-Pérez, J., Rojas-García, A., Reyes-Vázquez, I. y Mendoza-Núñez, M. (2018). Composición química y degradaciones in vitro de vainas y hojas de leguminosas arbóreas del trópico seco de México. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias* Volumen 9(1): 10-120. Doi: 10.22319/rmcp.v9i1.4332
- Hess, H., Kreuzer, M., Díaz, T., Lascano, C., Carulla, J., Soliva, C. and Machmüller, A. (2003). Saponin rich tropical fruits affect fermentation and methanogenesis in faunated and defaunated rumen fluid. *Animal Feed Science and Technology*, 109(1–4), 79–94. Doi: 10.1016/S0377-8401(03)00212-8
- Hoste H., Manolaraki F., Brunet S., Arroyo López C., Martínez-Ortiz de Montellano C., Sotiraki S. and Torres Acosta F. (2011). The anthelmintic properties of tannin-rich legume forages: from knowledge to exploitation in farm conditions. In: Ranilla M.J. (ed.), Carro M.D. (ed.), Ben Salem H. (ed.), Morand-Fehr P. (ed.). *Challenging strategies to promote the sheep and goat sector in the current global context*. Zaragoza: CIHEAM / CSIC / Universidad de León / FAO, 2011. p. 295-304 (Options Méditerranéennes: Série A. Séminaires Méditerranéens; n. 99). Recuperado en: <http://ressources.ciheam.org/om/pdf/a99/00801571.pdf>
- Ivan, M., Koenig, K., Teferedegne, B., Newbold, C., Entz, T., Rode, L. and Ibrahim, M. (2004). Effects of the dietary *Enterolobium cyclocarpum* foliage on the population dynamics of rumen ciliate protozoa in sheep. *Small Ruminant Research*, 52(1), 81-91. Doi: 10.1016/S0921-4488(03)00230-X
- Jang, S., Jun, M., Lillehoj, H. Dalloul, R., Kong, I., Kim, S and Min, W. (2007). Anticoccidial effect of Green tea-based diets against *Eimeria máxima*. *Veterinary parasitology*, 144, 172-175. Doi: 10.1016/j.vetpar.2006.09.005
- Jiménez-Hernández, J., Meneses-Esparza, F., Rosendo-Escobar, J., Vivar-Vera, M., Bello-Pérez, L. y García-Suárez, F. (2011). Extracción y caracterización del almidón de las semillas de *Enterolobium cyclocarpum*, *Journal of Food*, 9(2), 89-95, Doi: 10.1080/19476331003743626

- Jörg, M., Vera, K., Sven, B. and Søren, B. (2011). Molecular activities, biosynthesis and evolution of triterpenoid saponins. *Phytochemistry*, 72:435–457. Doi: 10.1016/j.phytochem.2011.01.015
- Khan, A., Naqvi, T. and Naqvi, M. (2012). Identification of Phytosaponins as Novel Biodynamic Agents: An Updated Overview. *Asian Journal of Experimental Biological Science*, 3(13); 459-467. ISSN-0975-5845.
- Koenig, K. M., Ivan, M., Teferedegne, B. T., Morgavi, D. P., Rode, L. M., Ibrahim, I. M. and Newbold, C. J. (2007). Effect of dietary *Enterolobium cyclocarpum* on microbial protein flow and nutrient digestibility in sheep maintained fauna-free, with total mixed fauna or with *Entodinium caudatum* monofauna. *British Journal of Nutrition*, 98(03), 504. Doi: 10.1017/S0007114507723930
- Kostadinovic, L., Puvaca, N., Popovic, S. and Levic, J. (2015). Botanical supplements as anti-coccidial alternatives in poultry nutrition. *World's Poultry Science Journal*. 71, 27-36. Doi:10.1017/S0043933915000033
- Kú-Vera, J., Ayala, A., Solorio, F., Briceño-Poot, G., Ruiz, A., Piñero, A., Barros, M., Soto, M., Espinosa, J., Albores, S., Chay-Canul, J., Aguilar, C., Ramírez, L. and Bazán, J. (2013). Tropical tree foliages and shrubs as feed additives in ruminants rations. *Nutritional Strategies of Animal Feed Additives*. Salem, ed. New York, USA: Nova Science Publishers.
- Lande, A., Ambavade, S., Swami, U., Adkar, P., Ambavade, P. and Waghmare, A. (2015). Saponins isolated from roots of *Chlorophytum borivillanum* reduce acute and chronic inflammation and histone deacetylase. *Journal of Integrative Medicine*, 13(1): 25–33. Doi: 10.1016/S2095-4964(15)60157-1
- Lazos-Balbuena, F. (2016). Uso del fruto de *Enterolobium cyclocarpum* como fuente de saponinas esteroidales para reducir la producción de metano entérico en bovinos. Tesis de maestría. Universidad Autónoma de Yucatán. México.

- Levine, N.D. (1995). *Protozologi Veteriner. Edisi Pertama.* Soekardono S, Brotowidjojo MD, Penterjemah. Yogyakarta (Indones): Gadjah Mada University Press. hlm. 186-191.
- Mahran, G.H., El-Alfy, T.S., Ahmed, M.S. and Hanna, S. (1980). Investigation of the saponin content of *Enterolobium cyclocarpum* Griseb. *African Medical Journal.* Pl. 3: 35-45.
- Makkar, H. (2003). Effects and fate of tannins in ruminant animals, adaptation to tannins, and strategies to overcome detrimental effects of feeding tannin-rich feeds. *Small Ruminant Research* 49, 241–256. Doi: 10.1016/S0921-4488(03)00142-1
- Mao, H., Wang, J., Zhou, Y., and Liu, J. (2010). Effects of addition of tea saponins and soybean oil on methane production, fermentation and microbial population in the rumen of growing lambs. *Livestock Science*, 129(1-3), 56–62. Doi: 10.1016/j.livsci.2009.12.011
- Martínez, M., Del Río, R., Flores, A., Martinez, R., Ron, O and Raya, D. (2012). *Enterolobium cyclocarpum* (Jacq.) Griseb.: The biotechnological profile of a tropical tree. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas* 11 (5): 385 – 399. Doi: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=85624131001>
- McAllister, P., Annette, C., Cockwill, C., Olson, M., Yang, Y. and Cheeke, P. (2001). Studies on the use of *Yucca schidigera* to control giardiasis. *Veterinary Parasitology*, 97:85-99. PII: S0304-4017(01)00394-6
- McDougald, L. and Fitz, S. (2008). *Disease of poultry.* Blackwell. USA.
- Mercado-Mercado, G., De la Rosa, L., Wall-Medrano, A., López, J. y Álvarez-Parrilla, E. (2013). Revisión Compuestos polifenólicos y capacidad antioxidante de especias típicas consumidas en México. *Nutrición Hospitalaria*, 28(1):36-46. Doi:10.3305/nh.2013.28.1.6298
- Minatel, O., Vanz, C., Ferrira, M., Gomez. A., Oliver, C., Pereira, G. (2017). Phenolic Compounds: Functional Properties, Impact of Processing and Bioavailability. Capítulo 1. InTech.

- Moghimipour, E., Sadaghi-Nejad, B., Handali, S., Ameri, A., Ramezani, Z. and Azemi, M. (2014). *In vitro* screening of anti-*candida* activity of saponins extracted from *Glycyrrhiza glabra* and *Quillaja saponaria*. Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research, 7(1):160-162. ISSN-0974-2441.
- Monforte-Briceño, G., Sandoval-Castro, C., Ramírez-Avilés, L. and Capetillo-Leal, C. (2005). Defaunating capacity of tropical fodder trees: Effects of polyethylene glycol and its relationship to *in vitro* gas production. Anim. Feed Sci. Technol., 123(Part 1), 313-327. Doi: 10.1016/j.anifeedsci.2005.04.016
- Montiel, M., Elizalde, J., Santini, F. y Giorda, L. (2012). Desactivación de taninos en grano húmedo de sorgo con polietilenglicol o urea. Archivos de zootecnia, 61(234), 235-244. Doi: <http://scielo.isciii.es/pdf/azoo/v61n234/art8.pdf>
- Moreno, R. (2009). Eimeriosis en aves en Parasitología Veterinaria Volumen 1 Protozoarios. Acastdel. México.
- Moreno, R. e Ibarra, F. (2002). Algunos aspectos de la coccidiosis aviar en la zona de Coatzacoalcos, Veracruz, México. Veterinaria México, 33 (1), 63-71. Consultado en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=42333107>
- Naidoo, V., McGaw, L.J., Bisschop, S.P.R, Duncan, N. and Eloff, J.N. (2008). The value of plant extracts with antioxidant activity in attenuating coccidiosis in broiler chickens. Veterinary Parasitology, 153: 214–219. Doi: 10.1016/j.vetpar.2008.02.013
- Naumann, H., Tedeschi, L., Zeller, W. and Huntley, N. (2017). The role of condensed tannins in ruminant animal production: advances, limitations and future directions. Revista Brasileira de Zootecnia, 46(12). Doi: <http://dx.doi.org/10.1590/s1806-92902017001200009>
- Navas-Camacho, A., Laredo, M.A., Cuesta, A., Ortega, O. and Romero, M. (1994). Evaluation of tropical trees with high ormedium saponins content as dietary alternative to eliminate ciliate protozoa from the rumen. Proceeding of the of Nutrition Physiology. 3: 204-210.

- Netala, V. R., Ghosh, S. B., Bobbu, P., Anitha, D. and Tartte, V. (2015). Triterpenoid saponins: A review on biosynthesis, Applications and mechanism of their action. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 7(1):24–28. ISSN-0975-1491.
- Ogedengbe, J. D.; Hunter, D. B. and Barta, J. R. (2011). Molecular identification of *Eimeria* species infecting market-age meat chickens in commercial flocks in Ontario. *Veterinary Parasitology* 178:350-354. Consultado en: <http://www.parasitesandvectors.com/content/7/1/335>
- Pandey, K. and Rizvi, S. (2009). Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2(5): 270–278. Doi: 10.4161/oxim.2.5.9498
- Passos, M. (2005). Synthesis of active analogs of adjuvant quillaja saponins in order to determine the structure-activity correlation studies towards the synthesis of QS-21. Göttinge.
- Peek, H. and Landman, W. (2011). Coccidiosis in poultry: anticoccidial products, vaccines and other prevention strategies. *Veterinary Quarterly*. 31(3). Doi: 10.1080/01652176.2011.605247
- Pop, L., Györke, A., Tăbăran, A., Dumitrache, M., Kalmár, Z., Magdaş, C., Mircean, V., Zagon, D., Balea, A. and Cozma, V. (2015). Effects of artemisinin in broiler chickens challenged with *Eimeria acervulina*, *E. maxima* and *E. tenella* in battery trials. *Veterinary Parasitology*, 214, 264-271. Doi: 10.1016/j.vetpar.2015.10.011
- Price, K., Johnson, I. and Fenwick. (1987). The chemistry and biological significance of saponins in foods and feedstuffs. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 26(1), 27-135. PMID: 3308321.
- Quiroz, R. and Dantán, E. (2015). Control of Avian Coccidiosis: Future and Present Natural Alternatives. *Biomed Research International*, Review Article. Doi: 10.1155/2015/430610

- Rambozzi, L., Molinar, A. and Menzano, A. (2011). *In vivo* anticoccidial activity of *Yucca schidigera* saponins in naturally infected calves. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 10(3), 391-394. Doi: 10.3923/javaa.2011.391.394
- Roa, L. (2016) Caracterización clínica y anatomopatológica de la intoxicación por *Enterolobium cyclocarpum* en el ganado bovino en los Llanos Orientales de Colombia. Tesis magisterial. Universidad Nacional de Colombia.
- Rodríguez, I., Cob, L. y Domínguez, J. (2001). Frecuencia de parásitos gastrointestinales en animales domésticos diagnosticados en Yucatán, México. *Revista Biomed*, 12, 19-25. Consultado: <http://www.uady.mx/~biomedic/rb011214.pdf>
- Saleem, M., Nazir, M., Ali, M., Hussain, H., Lee, Y., Riaz, N. and Jabbar, A. (2010). Antimicrobial natural products: an update on future antibiotic drug candidates. *Natural Products Reports*, 27, 238–254. Doi: 10.1039/b916096e
- Sanoj, N., Muthunarayanan, M., Muthuchelian, K., Chennazhi, K., Nair, S. and Jayakumar, R. (2010). Saponin-loaded chitosan nanoparticles and their cytotoxicity to cancer cell lines *in vitro*. *Carbohydrate Polymers* 84:407–416. Doi: 10.1016/j.carbpol.2010.11.056
- Sen, S., Makkar, H. P. S., and Becker, K. (1998). Alfalfa Saponins and Their Implication in Animal Nutrition. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(1), 131-140. PMID: 10554208.
- Serratos, J., Carreón, J., Castañeda, H., Garzón, P. y García, J. (2008). Composición químico-nutricional y de factores antinutricionales en semillas de parota (*Enterolobium cyclocarpum*). *Interciencia*, 33(11): 850-854. Doi: <http://www.redalyc.org/pdf/339/33913612.pdf>
- Sharman, P. Smith, N., Wallach, M. and Katrib, M. (2010). Chasing the golden egg: vaccination against poultry coccidiosis. A review article. *Parasite Immunology*, 32:590–598. Doi: 10.1111/j.1365-3024.2010.01209.x
- Shirmohammadli, Y., Efhamisisi, D., & Pizzi, A. (2018). Tannins as a sustainable raw material for green chemistry: A review. *Industrial Crops and Products*, 126, 316–332. Doi: 10.1016/j.indcrop.2018.10.034.

- Singh, S., Farswan, M., Ali, S., Afzal, M., Al-Abbasi, F., Kazmi, I. and Anwar, F. (2014). Antidiabetic potential of triterpenoid saponin isolated from *Primula denticulate*. *Pharmaceutical Biology*, 52(6):750-5. Doi: 10.3109/13880209.2013.869759
- Soltani, M., Parivar, K., Baharara, J., Kerachian, M. and Asili, J. (2014). Hemolytic and cytotoxic properties of saponin purified from *Holothuria leucospilota* sea cucumber, *Reports of Biochemistry and Molecular Biology*, 3(1):43-50. PMID: 26989736
- Sotelo, A., Lucas, B., Uvalle, A. and Giral, F. (1980). Chemical composition and toxic factors contents of sixteen leguminous seeds. *Quarterly Journal of Crude Drug Research*. 18: 9-16.
- Sparg, S., Light, M. and Van Staden, J. (2004). Biological activities and distribution of plant saponins. *Journal of Ethnopharmacology*, 94(2-3), 219-243. Doi:10.1016/j.jep.2004.05.016
- Stagos, D., Amoutzias, G. D., Matakos, A., Spyrou, A., Tsatsakis, A. M. and Kouretas, D., (2012). Chemoprevention of liver cancer by plant polyphenols. *Food and Chemical Toxicology* 50, 2155–2170. Doi: 10.1016/j.fct.2012.04.002
- Swaggerty, C., Pevzner, I. and Kogut, M. (2015). Selection for pro-inflammatory mediators produces chickens more resistant to *Eimeria tenella*. *Poultry Science*, 94, 37-42. Doi: 10.3382/ps/peu053
- Thakur, M., Melzig, M., Fuchs, H. and Weng, A. (2011). Chemistry and pharmacology of saponins: Special focus on cytotoxic properties. *Botanics: Targets and Therapy*, 1:19-29. Doi: 10.2147/BTAT.S17261.
- Velasco, A., Melgarejo, V., y Velasco, N. (1997). Conversión alimenticia, ganancia de peso y rendimiento en canal de novillos alimentados con diferente proporción de fruto de parota (*Enterolobium cyclocarpum*). *Memorias del XX Congreso Nacional de Buiatría*. Acapulco (Gro) México. México (DF): Asociación de Médicos Veterinarios Especialistas en Bovinos, AC.301:304.

- Wallace, R.J., Oleszek, W., Franz, C., Hahn, I., Baser, K.H.C., Mathe, A. and Teichmann, K. (2010) Dietary plant bioactives for poultry health and productivity, *British Poultry Science*, 51:4, 461-487, Doi: 10.1080/00071668.2010.506908
- Wang, Y., Xiang, L., Yi, X. and He, X. (2017). Potential Anti-inflammatory Steroidal Saponins from the Berries of *Solanum nigrum* L. (European Black Nightshade). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65(21), 4262–4272. Doi: 10.1021/acs.jafc.7b00985
- Wina, E., Muetzel, S. and Becker, K. (2005). The impact of saponins or saponin-containing plant materials on ruminant production a review. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 53(21), 8093-8105. Doi: 10.1021/jf048053d
- Witcombe, D. and Smith, N. (2014). Strategies for anti-coccidial prophylaxis. *Parasitology*, 141, 1379-1389. Doi:10.1017/S0031182014000195
- Yang, C., Zhang, Y., Jacob, M., Khan, S., Zhang, Y. and Li, X. (2006). Antifungal Activity of C-27 Steroidal Saponins. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 50(5): 1710–1714. Doi: 10.1128/AAC.50.5.1710–1714.2006
- Yassin, N., Melek, F., Selim, M. and Kassem, I. (2013). Pharmacological activities of saponin-containing fraction derived from *Gleditsia caspica* Desf. methanolic fruit extract. *Der Pharmacia Lettre*, 5(2):247-253.
- Yim, D., Kang, S., Kim, D., Kim, S., Lillehoj, H. and Min, W. (2011). Protective effects of Aloe vera-based diets in *Eimeria maxima*-infected broiler chickens. *Experimental Parasitology*, 127(1):322-5. Doi: 10.1016/j.exppara.2010.08.010
- Youn, H. and Noh, J. (2001). Screening of the anticoccidial effects of herb extracts against *Eimeria tenella*. *Veterinary Parasitology*, 96, 257-263. PII: S0304-4017(01)00385-5
- Yu, K., Chen, F. and Li, C. (2012). Absorption, disposition, and pharmacokinetics of saponins from Chinese medicinal herbs: what do we know and what do we need to know more?. *Current Drug Metabolism*, 13(5), 577-598.

Zhai, K. F., Zheng, J. R., Tang, Y. M., Li, F., Lv, Y. N., Zhang, Y. Y. and Kou, J. P. (2017). The saponin D39 blocks dissociation of non-muscular myosin heavy chain IIA from TNF receptor 2, suppressing tissue factor expression and venous thrombosis. *British Journal of Pharmacology*, 174(17), 2818–2831. Doi: 10.1111/bph.13885

ARTÍCULO CIENTÍFICO

Título:

Uso de extracto etanólico del fruto de *Enterolobium cyclocarpum* (Jacq.) Griseb como anticoccidial en pollos Leghorn.

Para enviar a la revista:

NOTA: el presente artículo fue elaborado de acuerdo con las normas de edición de la revista Veterinary Parasitology.

1 Uso de extracto etanólico del fruto de *Enterolobium cyclocarpum* (Jacq.) Griseb
2 como anticoccidial en pollos Leghorn.

3 Rosalinda Urtecho-Novelo^{a*}, Ronald Herve Santos-Ricalde^a, Luis Armando
4 Sarmiento-Franco^a, Juan Felipe de Jesús Torres-Acosta^a, Rocío Borges-Árguez^b

5 ^a Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma de
6 Yucatán, Km 15.5 carretera Mérida-Xmatkuil, Mérida, Yucatán, México.

7 ^b Centro de Investigación Científica de Yucatán A. C. (CICY), Calle 43 n. 130 x 32
8 y 34 Chuburná de Hidalgo, CP. 97205, Mérida, Yucatán, México.

9 *Autor para la correspondencia: urtechonovelo@gmail.com

10

11

12

13

14

15

16

17

18

19

20

21

22

23

24

25 Puntos destacados

- 26 • Se evaluó un extracto etanólico de *E. cyclocarpum* con posible efecto
27 anticoccidial.
- 28 • Se realizaron dos experimentos para evaluar el extracto de *E. cyclocarpum*.
- 29 • El extracto de *E. cyclocarpum* redujo la cantidad de ooquistes en las heces.
- 30 • El uso del extracto + polietilenglicol tuvo efecto semejante a un
31 coccidiostato.

32

33 Resumen

34 Se realizaron dos experimentos para evaluar el efecto anticoccidial del extracto
35 etanólico del fruto de *Enterolobium cyclocarpum* (EC) en el alimento de pollos
36 Leghorn. En ambos experimentos, se infectó a las aves con 11,000 ooquistes
37 esporulados atenuados de *Eimeria* spp. En el primer experimento, se evaluó el
38 extracto cuando la infección estaba en período patente, y en el segundo, con la
39 infección en período pre-patente y patente.

40 En el experimento uno se emplearon cinco tratamientos; tres con EC (150, 300 y
41 450 mg/kg de alimento), con decoquinato (C) y sin anticoccidial (SC). Los
42 tratamientos se ofrecieron del día cinco al catorce post-infección. Se midió el
43 número de ooquistes en heces, consumo de alimento y peso vivo. El día 14 post-
44 infección los tratamientos con EC eliminaron menos ooquistes en comparación
45 con el tratamiento SC ($P < 0.05$). Los resultados obtenidos indican que la inclusión
46 de EC no afectó el consumo de alimento, pero redujo el peso vivo. En el
47 experimento dos se utilizaron seis tratamientos, cinco idénticos a los del primer

48 experimento, y un tratamiento con polietilenglicol en el nivel 300 mg/kg de EC
49 (E300PEG). Los tratamientos se ofrecieron cinco días antes de infectar a las aves
50 hasta el día trece post-infección. El día 13 post-infección, los tratamientos con EC
51 y E300PEG eliminaron cantidades semejantes de ooquistes que el tratamiento C
52 ($P>0.05$), sin embargo, se observó una reducción significativa en comparación con
53 el tratamiento SC ($P<0.05$). El consumo de alimento no se afectó por la utilización
54 de los tratamientos con EC, sin embargo, la ganancia de peso fue menor en
55 comparación con el tratamiento C ($P<0.05$). Los tratamientos E300PEG y C
56 tuvieron ganancias de peso similares ($P>0.05$). Los resultados obtenidos sugieren
57 que el uso del tratamiento E300PEG redujo la excreción de ooquistes, y mejoró la
58 ganancia de peso, demostrando resultados semejantes al tratamiento C.

59

60 Palabras clave

61 Pollos, *Eimeria* spp., *Enterolobium cyclocarpum*, extracto etanólico, anticoccidial.

62

63 1. Introducción

64 Desde la década de los 40's en la industria avícola se implementó el uso de
65 fármacos para controlar o eliminar al protozoario *Eimeria* spp. y evitar la
66 coccidiosis que el parásito ocasiona (Blake y Tomley, 2014; Abbas *et al.*, 2017).

67 Hasta tiempos recientes, la manera más común de controlar a *Eimeria* spp. ha
68 sido el uso de anticoccidiales, incluidos en el alimento de los pollos (Witcombe y
69 Smith, 2014; Kadykalo *et al.*, 2018). Impedir la coccidiosis se traduce en
70 desempeños productivos pertinentes, evitando retraso en el crecimiento,
71 incremento en la conversión alimenticia y mortalidad excesiva (Kostadinovic *et al.*,

72 2015; Swaggerty *et al.*, 2015). Sin embargo, el uso inadecuado y desmedido de
73 anticoccidiales provocó que a pocos años de su implementación aparecieran
74 parásitos resistentes a dichas drogas (Blake y Tomley, 2014; Witcombe y Smith,
75 2014). En 2016, la Federación de Veterinarios de Europa propuso controlar el uso
76 de anticoccidiales. Adicionalmente, los consumidores evitan adquirir productos de
77 origen animal con posibles residuos de fármacos, y prefieren aquellos que sean
78 orgánicos o “naturales” (Pirali-Kheirabadi *et al.*, 2014; Cervantes, 2015).

79 En este contexto, existe interés en conocer plantas con compuestos secundarios
80 que puedan emplearse como aditivos anticoccidiales alternativos, para mejorar la
81 salud animal (Muthamilselvan *et al.*, 2016; Wang *et al.*, 2017). Se han estudiado
82 plantas con compuestos secundarios que han presentado efecto bioactivo contra
83 *Eimeria* spp. en aves (De pablos *et al.*, 2010; Yim *et al.*, 2011; Zaman *et al.*, 2012;
84 Abbas *et al.*, 2017; Ahad *et al.*, 2018). Algunas de las plantas se han incluido en la
85 dieta (Brisibe *et al.*, 2008; Hassan *et al.*, 2008; Kostadinovic *et al.*, 2015; Bozkurt *et*
86 *al.*, 2016; Lan *et al.*, 2016; Wang *et al.*, 2017) o en agua de bebida (Youn y Noh,
87 2001; Naidoo *et al.*, 2008).

88 Los compuestos secundarios que presentan actividad contra *Eimeria*, incluyen a
89 flavonoides, papaína, ácidos grasos omega 3 y taninos (Abbas *et al.*, 2012;
90 Muthamilselvan *et al.*, 2016). De igual manera, existen estudios que han
91 demostrado el efecto de plantas ricas en saponinas sobre *Eimeria* spp. en pollos,
92 en condiciones *in vitro* e *in vivo* (Alfaro *et al.*, 2007; Hassan *et al.*, 2008; Karimy *et*
93 *al.*, 2013; Rakhmani *et al.*, 2014; Pasaribu *et al.*, 2014; Lan *et al.*, 2016). Se asume
94 que las saponinas, provocan la muerte de protozoarios cuando se unen a las
95 moléculas de esterol de la superficie de la membrana de dichos organismos

96 (Francis *et al.*, 2002; Wina *et al.*, 2005; Pen *et al.*, 2008), o cuando ingresan a
97 través de la brecha o capa del micropilo del esporocisto para perturbarlo
98 directamente (Pasaribu *et al.*, 2014).

99 Por otro lado, se ha demostrado el efecto defaunante de las saponinas sobre los
100 protozoarios ciliados en líquido ruminal (Francis *et al.*, 2002; Wina *et al.*, 2005;
101 Koenig *et al.*, 2007; Pen *et al.*, 2008; Mao *et al.*, 2010; Jayanegara *et al.*, 2014).

102 El *Enterolobium cyclocarpum* (EC) es una planta rica en saponinas que ha
103 demostrado actividad defaunante (Lazos-Balbuena, 2016; Albores-Moreno *et al.*,
104 2017). Sin embargo, no existen estudios acerca de su efecto sobre *Eimeria* en
105 aves de corral. El extracto metanólico de las hojas y el extracto etanólico del fruto
106 de EC han manifestado actividad *in vitro* contra protozoarios ruminales (Hess *et*
107 *al.*, 2003; Monforte-Briceño *et al.*, 2005). El efecto de los extractos mencionados
108 se atribuye a la presencia de saponinas, fenoles y taninos condensados (Hess *et*
109 *al.*, 2003; Monforte-Briceño *et al.*, 2005).

110 La evaluación del efecto anticoccidial de fármacos y productos naturales,
111 comúnmente se realiza en pollos inoculados con ooquistes esporulados de cepas
112 de campo del protozoario *Eimeria* (Holdsworth *et al.*, 2004). La obtención de
113 dichos ooquistes requiere un procedimiento tardado y costoso (e. g. Habibi *et al.*,
114 2014; Lan *et al.*, 2016), y no existen proveedores comerciales de éstos materiales
115 biológicos. Al respecto, se ha utilizado una metodología alternativa para provocar
116 signos clínicos de coccidiosis en las aves, empleando una sola inoculación con
117 dosis incrementadas de vacunas anticoccidiales (Mohiti-Asli y Ghanaatparast-
118 Rashti, 2015; Mathis *et al.*, 2018; Wang *et al.*, 2018).

119 Por lo tanto, en ausencia de estudios relacionados con el uso del extracto de *E.*
120 *cyclocarpum* para el control de *Eimeria* spp. en aves, y con la intención de
121 encontrar una alternativa para el control de la coccidiosis aviar, en el presente
122 trabajo se desafió a los pollos en una sola ocasión con un inóculo vacunal en dosis
123 incrementada, para evaluar el efecto anticoccidial del extracto etanólico del fruto
124 de *E. cyclocarpum* sobre el número de ooquistes en heces, lesiones
125 macroscópicas en intestino, el consumo de alimento y el peso vivo en aves.

126

127 2. Materiales y métodos

128 En el presente estudio se realizaron dos experimentos. En el primer experimento,
129 se incluyó el extracto etanólico del fruto de *E. cyclocarpum* (EC) en el período
130 patente de infección por *Eimeria* spp. (del día cinco al catorce post-infección). En
131 el segundo experimento, en un período pre-patente y patente del proceso
132 infeccioso (cinco días antes de la infección, hasta trece días post-infección).

133

134 2.1. Sitio de estudio

135 Ambos experimentos se realizaron en las instalaciones de la Unidad Experimental
136 del Departamento de Nutrición Animal de la Facultad de Medicina Veterinaria y
137 Zootecnia de la Universidad Autónoma de Yucatán (FMVZ-UADY), ubicada a
138 20°58'N y 89°37'O en el sureste de México, con clima cálido subhúmedo y
139 temperatura promedio de 29.6°C (INEGI, 2017). Se obtuvo la aprobación del
140 Comité Interno de Bioética para el buen manejo y cuidado de los animales (CB-
141 CCBA-M-2018-004).

142

143 2.2. Elaboración de premezcla con el extracto etanólico

144 El extracto se obtuvo remojando un kilogramo de frutos troceados de *E.*
145 *cyclocarpum*, en 5 litros de etanol absoluto durante 24 horas a temperatura
146 ambiente. Se filtró y secó el sobrenadante con un rotoevaporador industrial
147 (Buchi®, modelo RE11). En el extracto etanólico, se detectaron las saponinas con
148 las pruebas cualitativas de hemólisis y formación de espuma (Carvajal *et al.*, 2009;
149 Mena *et al.*, 2015), y se cuantificaron basándose en los métodos de Wall *et al.*
150 (1952) y Hess *et al.* (2003), estableciéndose una concentración de 38 mg/g. Se
151 determinó un contenido de 13 mg/g de fenoles totales en el extracto, por el método
152 de Folin–Ciocalteu sugerido por Makkar (2003), y se hallaron 18 mg/g de taninos
153 condensados por el método de la Vainillina, recomendado por Price *et al.* (1978).
154 Para incorporar el extracto etanólico en las dietas, se elaboró una premezcla
155 disolviendo 150 g de extracto etanólico en 1 litro de agua, ésta solución se mezcló
156 con 5 kg de maíz en una batidora eléctrica. Posteriormente, ésta mezcla se secó a
157 50 °C por 24 horas en un horno eléctrico. Se estimó que en cada kilogramo de la
158 premezcla había una concentración de 30 g del extracto. Considerando dicha
159 cantidad de extracto y la cuantificación de compuestos secundarios realizada
160 previamente, se calculó que por kilogramo de premezcla había 1140 mg de
161 saponinas crudas, 390 mg de fenoles totales y 540 mg de taninos condensados.

162

163 2.3. Dieta base.

164 En ambos experimentos, se utilizó una dieta base para todos los grupos
165 experimentales, elaborada con maíz (*Zea mays*) y pasta de soya (*Glycine max*)
166 complementada con vitaminas y minerales, de acuerdo con los requerimientos

167 nutricionales para pollas Leghorn en etapa de crianza (18% PC; 2900 kcal EM/kg)
168 (Rostagno *et al.*, 2017). La premezcla se incluyó en la dieta base en cantidades
169 que garantizaran las concentraciones de 150, 300 y 450 mg de extracto/kg de
170 alimento en los tratamientos correspondientes.

171

172 2.4. Experimento 1

173 2.4.1. Animales

174 Se emplearon 1000 pollos Leghorn machos de un día de edad, los cuales fueron
175 alojados en corrales de 1 m², cercados con malla de alambre, que contaban con
176 cama de viruta, una fuente de calor, un comedero y un bebedero. Los pollos se
177 distribuyeron de manera aleatoria en 20 corrales, de tal manera que, cada
178 tratamiento tuviera 200 pollos, distribuidos en 4 corrales de 50 aves cada uno.

179

180 2.4.2. Tratamientos

181 Se emplearon cinco tratamientos: tres tratamientos con EC en la dieta (150, 300 y
182 450 mg/kg de alimento), una dieta con coccidiostato comercial (Coccimax®;
183 principio activo, decoquinato) empleado de acuerdo a lo recomendado por el
184 proveedor (C), y una sin anticoccidial (SC).

185

186 2.4.3. Manejo experimental

187 Se infectó a los pollos de manera individual, inoculando una solución de 0.1 ml
188 que contenía 11,000 ooquistes esporulados de *E. tenella*, *E. maxima*, *E. acervulina*
189 y *E. praecox* de origen vacunal (Autocox®), para desafiarlos con 10 veces la dosis
190 recomendada por el fabricante, con el propósito de incrementar el número inicial

191 de ooquistes esporulados infectantes que serían ingeridos por cada ave, y con ello
192 provocar un reto con mayor patogenicidad (Mohiti-Asli y Ghanaatparast-Rashti,
193 2015; Mathis *et al.*, 2018; Wang *et al.*, 2018). El protocolo permite la presencia de
194 signos clínicos característicos de la infección, debido a que: (a) se emplea una
195 dosis 10 veces mayor a la propuesta por el fabricante y, (b) en una sola
196 exposición, en tanto que el protocolo del fabricante especifica 3 exposiciones a
197 dosis bajas.

198 La infección se realizó el día 2 de edad de las aves. Los tratamientos se ofrecieron
199 del día cinco al catorce post-infección.

200

201 2.4.4. Conteo de ooquistes en heces

202 Se colectaron muestras de heces fecales de 12 aves, elegidas al azar, por corral.
203 Dichas aves, fueron colocadas en cajas, en tres grupos de 4 pollos cada uno, para
204 reunir 4 g de muestra por grupo (Holdsworth *et al.*, 2004; Naidoo *et al.*, 2008). Se
205 obtuvieron 3 muestras por cada uno de los 4 corrales de cada tratamiento.

206 Se colectaron muestras de heces los días 7, 9, 12 y 14 post-infección (Holdsworth
207 *et al.*, 2004; Bozkurt *et al.*, 2016). Las aves muestreadas fueron retiradas y
208 sacrificadas de manera humanitaria. Las muestras fueron resguardadas en bolsas
209 de polietileno, refrigeradas y transportadas inmediatamente al laboratorio para su
210 procesamiento. Con la técnica de McMaster se determinó el número de ooquistes
211 por gramo de heces (Holdsworth *et al.*, 2004; Abbas *et al.*, 2017; Ahad *et al.*,
212 2018).

213

214 2.4.5. Peso vivo, ganancia de peso y consumo de alimento

215 Se pesó a las aves de cada corral, el día uno de edad y el día 14 post-infección, y
216 se calculó la ganancia de peso, como la diferencia entre peso inicial y final
217 (Medina *et al.*, 2014). Los días 7, 9, 12 y 14 post-infección se midió el consumo de
218 alimento acumulado promedio por ave por cada corral (Holdsworth *et al.*, 2004; de
219 la Mora *et al.*, 2011; Habibi *et al.*, 2014). El consumo de alimento se estimó como
220 la diferencia entre el alimento ofrecido y el rechazado, dividido entre el total de
221 aves por corral (Holdsworth *et al.*, 2004; Bozkurt *et al.*, 2016).

222

223 2.4.6. Análisis estadístico

224 Los datos sobre número de ooquistes fueron transformados a \log^{10} , debido a la
225 ausencia de distribución normal, y se analizaron con el procedimiento PROC
226 MIXED del programa SAS (2010) para datos obtenidos en modelos mixtos con
227 medidas repetidas, empleando la función REPEATED para el número de muestras
228 obtenidas por corral. Las variables de peso vivo, ganancia de peso y consumo de
229 alimento, se analizaron empleando un Modelo Lineal Generalizado (GLM) (SAS,
230 2010). Las medias fueron comparadas empleando contrastes pre-planeados con
231 el programa SAS (2010). Se consideraron diferencias significativas si el valor de P
232 ≤ 0.05 .

233

234 2.5. Experimento 2

235 2.5.1. Animales

236 Se emplearon 408 pollos Leghorn machos de un día de edad, alojados en corrales
237 de 1m², con comedero y un bebedero. Las aves se colocaron aleatoriamente en
238 24 corrales, distribuidos en 4 corrales por tratamiento, con 17 aves cada uno.

239

240 2.5.2. Tratamientos

241 Se emplearon los cinco tratamientos del experimento uno: tres niveles de EC (150,
242 300 y 450 mg/kg de alimento) C y SC. Además, se incorporó un tratamiento con
243 1g de polietilenglicol (PEG) + 300 mg del extracto por kg de alimento (E300PEG)
244 (Oduguwa *et al.*, 2007).

245

246 2.5.3. Manejo experimental

247 Se infectó a los pollos de manera individual en el día 5 de edad, con una solución
248 con 11,000 ooquistes esporulados de *E. tenella*, *E. maxima*, *E. acervulina* y *E.*
249 *praecox* de origen vacunal (Autocox®), para desafiarlos con 10 veces la dosis
250 recomendada por el fabricante, empleando el protocolo del experimento uno.

251 Los tratamientos se ofrecieron en un período pre-patente y patente (cinco días
252 antes de infectarlos y hasta trece días post-infección).

253

254 2.5.4. Conteo de ooquistes en heces y lesiones macroscópicas

255 Se colectaron heces de la misma manera que en el experimento uno, sin
256 embargo, a diferencia de ese experimento, en este experimento las aves
257 empleadas fueron retornadas al corral después de cada muestreo. Se obtuvieron 3
258 muestras por cada uno de los 4 corrales de cada tratamiento. Las muestras se
259 procesaron para el conteo de ooquistes con la técnica McMaster. Se muestreo los
260 días 7, 10 y 13 post-infección (Holdsworth *et al.*, 2004; Kaboutari *et al.*, 2013).

261 El último día de muestreo se seleccionaron al azar 3 aves por corral. Las aves
262 fueron sacrificadas de manera humanitaria. Se diseccionaron los intestinos por la

263 línea media, desde la base de la molleja hasta el recto (Orengo *et al.*, 2012; Sing
264 *et al.*, 2015). Se evaluó la extensión de las lesiones macroscópicas mediante
265 inspección visual con la escala 0-4 de Johnson y Reid (1970) y se utilizó como
266 apoyo de evaluación las ilustraciones de Conway y McKenzie (2007). Las
267 secciones del intestino (duodeno, yeyuno, íleon, ciegos) se inspeccionaron por
268 separado (Scheurer, 2013; Ojmelukwe *et al.*, 2018).

269

270 2.5.5. Peso vivo, ganancia de peso y consumo de alimento

271 Se pesó a las aves el día de nacidos y el día 13 post-infección. Adicionalmente, se
272 obtuvo el peso promedio de las aves antes de la inoculación con *Eimeria*, y se
273 estimó la ganancia de peso durante el período infeccioso, calculado como la
274 diferencia entre peso inicial y final de dicho intervalo (Medina *et al.*, 2014).

275 Adicionalmente, se midió el consumo de alimento por tratamiento los días 0, 7, 10
276 y 13 post-infección (Holdsworth *et al.*, 2004; Habibi *et al.*, 2014).

277

278 2.5.6. Análisis estadístico

279 El número de ooquistes fue transformado a \log^{10} para su análisis estadístico, y se
280 empleó el procedimiento PROC MIXED del programa SAS (2010) para datos en
281 modelos mixtos con medidas repetidas, empleando la función REPEATED para el
282 número de muestras por corral. Las variables de consumo de alimento, ganancia
283 de peso y peso final se analizaron con un Modelo Lineal Generalizado (GLM)
284 (SAS, 2010). Las medias fueron comparadas mediante contrastes pre-planeados
285 con el programa SAS (2010). Las lesiones macroscópicas en intestino se

286 analizaron con la prueba de Kruskal-Wallis (Statgraphics, 2010). Se consideraron
287 diferencias significativas si el valor de $P \leq 0.05$.

288

289 3. Resultados

290 3.1. Experimento 1

291 El día previo al ofrecimiento de los tratamientos, se confirmó la presencia de
292 ooquistes en las heces empleando la técnica de McMaster, para determinar su
293 eliminación (Figuroa- Castillo *et al.*, 2015; Hu *et al.*, 2015).

294 Los días 7, 9 y 12 post-infección, no se observaron diferencias en la eliminación
295 de ooquistes en heces, entre tratamientos ($P > 0.05$). El día 9 post-infección, se
296 observó que entre los tratamientos con EC se presentó una respuesta lineal
297 ascendente en cuanto al nivel de inclusión y el número de ooquistes excretados
298 ($P < 0.05$). El día 14 post-infección, los tratamientos con EC redujeron
299 significativamente ($P < 0.05$) el número de ooquistes excretados en comparación
300 con el tratamiento SC (Tabla 1). Se observó una reducción en la excreción de
301 ooquistes de los muestreos del día 7 al 14 en todos los tratamientos (Tabla 1).

302 No se observó diferencias en el consumo de alimento entre los tratamientos con
303 EC y C ($P > 0.05$) (Tabla 2). Sin embargo, los pollos del tratamiento C tuvieron
304 mayor ganancia de peso en comparación con los otros tratamientos ($P < 0.05$). El
305 peso vivo de los pollos en los tratamientos SC y EC no fueron diferentes
306 estadísticamente ($P > 0.05$) (Tabla 3).

307

308 3.2. Experimento 2

309 Un día previo a la infección, se confirmó la ausencia de ooquistes en heces
310 mediante la técnica de flotación, debido a que tiene mayor sensibilidad para
311 detectar la presencia de ooquistes de protozoarios aún en bajos niveles de
312 infección (Figuroa- Castillo *et al.*, 2015; Zarith *et al.*, 2017).

313 Los días 7 y 10 post-infección, se encontró que las aves del tratamiento C
314 presentaron menor número de ooquistes en heces ($P < 0.05$) que aquellas de los
315 tratamientos con EC y E300PEG, pero no se observó diferencias estadísticas
316 ($P > 0.05$) el día 13 post-infección (Tabla 4).

317 El día 10 post-infección, la eliminación de ooquistes en las heces de los pollos fue
318 similar entre los tratamientos EC, E300PEG y SC ($P > 0.05$), pero el día 13 post-
319 infección el número de ooquistes en los tratamientos EC y E300PEG disminuyeron
320 significativamente con respecto al tratamiento SC ($P < 0.05$).

321 Los pollos en el tratamiento C ganaron más peso que aquellos en los tratamientos
322 con EC ($P < 0.05$), y éstos últimos no fueron diferentes a los pollos del tratamiento
323 SC ($P > 0.05$). No obstante, los pollos del tratamiento E300PEG ganaron peso de
324 manera similar al tratamiento C ($P > 0.05$), y tuvieron mejor ganancia de peso que
325 las aves del tratamiento SC y de los tratamientos con EC ($P < 0.05$). Cabe resaltar
326 que los pollos del tratamiento E300PEG presentaron tanto menor consumo de
327 alimento como conversión alimenticia en comparación con los tratamientos C, EC
328 y SC ($P < 0.05$) (Tabla 5).

329 No se observaron lesiones macroscópicas mayores al valor 2 (lesiones
330 moderadas), siendo la moda para todos los tratamientos el valor 1 (lesiones
331 leves). No se encontraron diferencias significativas en la severidad de las lesiones

332 observadas entre tratamientos en ninguna de las secciones evaluadas del
333 intestino ($P>0.05$).

334

335 Discusión

336 3.1. Experimento 1

337 En este experimento, en dónde los tratamientos se ofrecieron cinco días después
338 de la infección con *Eimeria*, se observó una disminución de la excreción de
339 ooquistes de los muestreos del día 7 al 14 post-infección, en todos los
340 tratamientos. Lo cual pudo haber sido ocasionado como respuesta inmunológica a
341 la exposición con cepas vacunales atenuadas (Peek y Landman, 2011; Barbour *et*
342 *al.*, 2015), o por cualquier infección con ooquistes esporulados de *Eimeria*, que
343 desencadena la respuesta celular y humoral, específica y no específica, con la
344 finalidad de impedir la reproducción y desarrollo del parásito (Yun *et al.*, 2000).

345 Sin embargo, es de resaltar que el día 14 post-infección, los pollos en los
346 tratamientos con EC y C excretaron un número de ooquistes significativamente
347 menor que los pollos en el tratamiento SC, después de al menos dos ciclos
348 reproductivos del parásito. Este resultado no concuerda con lo mencionado por
349 Muthamilselvan *et al.* (2016), respecto a los compuestos secundarios de plantas,
350 afirmando que inhiben el desarrollo de las fases de *Eimeria* desde el primer ciclo
351 reproductivo. Por lo tanto, es posible que el EC tenga un efecto tardío, igual al
352 mostrado por el tratamiento con coccidiostato (C), afectando parcialmente a las
353 fases del ciclo de reproducción de *Eimeria*. Dicho resultado sugiere que, los
354 tratamientos de EC se comportaron de manera similar a los coccidiostatos, los
355 cuales requieren más tiempo para actuar, debido a que su efecto no es

356 coccidicida, sino más bien es regulador de la reproducción, crecimiento y
357 desarrollo de la población del parásito (Croubels y Daeseleire, 2012; Kant *et al.*,
358 2013).

359 También, se ha reportado que el uso de extractos de plantas como aditivos puede
360 favorecer la salud intestinal, mejorando la función inmunológica y disminuyendo el
361 riesgo de infecciones oportunistas en situaciones de infección por *Eimeria*
362 (Wallace *et al.*, 2010). Los extractos de plantas administrados de forma oral
363 incrementan los títulos de anticuerpos y la respuesta celular, estimulando el
364 desarrollo de la respuesta inmune (Awais *et al.*, 2011; Akhtar *et al.*, 2012; Kaleem
365 *et al.*, 2014), siendo que los mecanismos de inmunomodulación de los extractos,
366 varían de acuerdo a la planta o combinación de ellas que haya sido empleada. Por
367 ejemplo, Awais *et al.* (2011) y Akhtar *et al.* (2012), encontraron que los
368 polisacáridos de los extractos de las plantas que evaluaron, tuvieron efectos
369 adyuvantes en la respuesta inmune, debido a que mediaron la activación del
370 sistema del complemento o estimularon la respuesta humoral y celular. Por otra
371 parte, Lee *et al.* (2010) reportaron que los extractos de plantas mejoraron la
372 respuesta inmune innata, promoviendo niveles incrementados de interleucinas (IL-
373 1 β , IL-6, IL-5) e interferón- γ (IFN- γ) en el intestino. Estos resultados, explicarían
374 una sinergia del EC con la respuesta inmune innata de los pollos, para reducir la
375 excreción de ooquistes en el último muestreo, con respecto al tratamiento SC.

376 El extracto de *Enterolobium cyclocarpum* no había sido incluido en la dieta de
377 pollos, posiblemente por los efectos adversos de la planta conocidos en
378 alimentación animal, y que son provocados por la presencia de compuestos
379 secundarios, entre los cuales destacan las saponinas, fenoles y taninos

380 condensados (Alonso-Díaz *et al.*, 2010; Hagerman, 2012; Wang *et al.*, 2017).
381 Adicionalmente, la planta es conocida por ser rica en saponinas, compuestos
382 caracterizados por su sabor amargo (Francis *et al.*, 2002).
383 Sin embargo, en éste experimento, la inclusión del extracto de *E. cyclocarpum* no
384 afectó el consumo de alimento, encontrando que lo observado concuerda con
385 otros estudios, en donde el consumo de los pollos no disminuyó por incluir en el
386 alimento extractos de otras plantas, aceites esenciales u otros compuestos
387 fitogénicos (Yim *et al.*, 2011; Bozkurt *et al.*, 2012; De Almeida *et al.*, 2012).
388 No obstante, se observó que los pollos de los tratamientos con SC y EC tuvieron
389 menor ganancia de peso que los del tratamiento C. Diversos estudios han
390 reportado que el uso de fármacos anticoccidiales manifiestan mejores ganancias
391 de peso en pollos, en comparación con el uso de extractos de plantas (Giannenas
392 *et al.*, 2003; Bozkurt *et al.*, 2012; Habibi *et al.*, 2014; Ahad *et al.*, 2018). Asimismo,
393 en el caso de los tratamientos EC y SC, la reducción en la ganancia de peso
394 pudiera atribuirse al proceso infeccioso por *Eimeria* (Arabkhazaeli *et al.*, 2011;
395 Györke *et al.*, 2016). Sin embargo, para los tratamientos con EC, de igual manera
396 existe la posibilidad de que los taninos identificados en el extracto hayan
397 contribuido con la reducción en la ganancia de peso. Los taninos se caracterizan
398 por reducir la digestibilidad y absorción de las proteínas y, en consecuencia,
399 disminuyen las ganancias de peso en los pollos (Hagerman, 2012; Naumann *et al.*,
400 2017; Shirmohammadli *et al.*, 2018).

401

402 3.2. Experimento 2

403 En éste experimento, en donde los tratamientos se ofrecieron cinco días antes de
404 la infección con *Eimeria*, el número de ooquistes en las heces de los pollos del
405 tratamiento C fueron menores a los tratamientos con EC, E300PEG y SC en los
406 días 7 y 10 post-infección. Estos resultados sugieren que, el uso del coccidiostato
407 previo a la infección fue más efectivo para controlar la carga parasitaria, a
408 diferencia de lo observado en el experimento uno, cuando se utilizó después de
409 varios días de haber infectado a las aves (Kant *et al.*, 2013).

410 Sin embargo, el día 13 post-infección los tratamientos con EC y E300PEG fueron
411 tan efectivos como el tratamiento C, para reducir la excreción de ooquistes, en
412 comparación con el tratamiento SC. Los resultados son consistentes con lo
413 encontrado en el experimento uno, respecto al tiempo que requiere el EC para
414 manifestar efecto sobre la eliminación de ooquistes en las heces. Como se
415 discutió en el experimento anterior, esta respuesta tardía observada en los
416 tratamientos con EC y E300PEG, puede deberse a que el EC no actuó como
417 coccidicida, sino más bien como coccidiostato, regulando la población de *Eimeria*
418 en el intestino. También, el EC pudo haber estimulado el desarrollo de la
419 respuesta inmune, tal y como se ha reportado para otros extractos de plantas
420 (Awais *et al.*, 2011; Akhtar *et al.*, 2012; Kaleem *et al.*, 2014). Estos resultados,
421 confirman el efecto positivo del EC sobre la reducción de ooquistes en los pollos.

422 Las mayores ganancias de peso observadas en los tratamientos C y E300PEG
423 con respecto a los tratamientos con EC, sugieren que los taninos del extracto
424 tienen un efecto negativo sobre el peso de las aves (Hassan *et al.*, 2003;
425 Hagerman, 2012; Chamorro, 2013; Naumann *et al.*, 2017; Shirmohammadli *et al.*,
426 2018), tal y como se planteó en el experimento uno. El efecto negativo de los

427 taninos en el EC, se confirmó con la adición de PEG como secuestrante de dichos
428 compuestos, en el tratamiento E300PEG, donde las ganancias de peso fueron
429 similares al tratamiento C.

430 El uso del extracto de EC en la dieta de pollos, desde el primer día de edad, no
431 afectó la ingesta de alimento. Sin embargo, se observó que los pollos del
432 tratamiento E300PEG presentaron tanto menor consumo de alimento como
433 conversión alimenticia en comparación con los tratamientos C, EC y SC, lo cual
434 pudiera relacionarse con un mayor aprovechamiento de nutrientes de las aves,
435 debido al bloqueó de los taninos del extracto al incluir el PEG (Mansoori *et al.*,
436 2007; Bedford *et al.*, 2016).

437 Con respecto a las lesiones macroscópicas observadas en el intestino de las aves,
438 algunos estudios han demostrado que la administración oral de extractos de
439 plantas incrementó los títulos de anticuerpos y la respuesta celular, con lo cual se
440 redujo el grado de lesiones macroscópicas en el intestino de pollos (Awais *et al.*,
441 2011; Akhtar *et al.*, 2012; Kaleem *et al.*, 2014). Sin embargo, tampoco se
442 observaron lesiones severas en el tratamiento SC. Estos resultados son
443 semejantes a lo reportado por Conway *et al.* (1993), después de 6 días de haber
444 infectado aves con ooquistes de *E. tenella*, *E. máxima* y *E. acervulina*, aunque con
445 una menor cantidad a la utilizada en este experimento. Se ha reportado que líneas
446 atenuadas y precoces de *Eimeria* usadas en las vacunas, tienen bajos potenciales
447 reproductivos y estimulan la respuesta inmune con un mínimo de daño tisular y
448 lesiones macroscópicas menos visibles (Sharman *et al.*, 2010; Peek y Landman,
449 2011). Es posible que los ooquistes atenuados, que fueron inoculados a los pollos

450 en este experimento, pudieran no dañar la mucosa intestinal como lo harían las
451 cepas de campo, a pesar de la elevada cantidad empleada.

452

453 4. Conclusión

454 En el experimento uno, el extracto etanólico del fruto de *Enterolobium cyclocarpum*
455 incluido en el alimento de pollos que tenían cinco días de infección por *Eimeria*,
456 disminuyó el número de ooquistes en las heces el día 14-post-infección, sin
457 afectar su consumo de alimento, pero reduciendo las ganancias de peso.

458 En el experimento dos, cuando el extracto etanólico de *E. cyclocarpum* se incluyó
459 en la dieta de pollos, cinco días antes de ser infectados con *Eimeria*, el número de
460 ooquistes en heces disminuyó significativamente el día 13 post-infección, y se
461 redujeron las ganancias de peso. Sin embargo, la adición de PEG al tratamiento
462 con 300 mg de extracto, disminuyó el número de ooquistes en las heces el día 13
463 post-infección, asimismo, mejoró la ganancia de peso, demostrando resultados
464 semejantes al coccidiostato.

465

466 Declaración de conflicto de intereses

467 Los autores declaran que no existe conflicto de intereses.

468

469 Agradecimientos

470 El primer autor agradece al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología
471 (CONACYT) por otorgar la beca para realizar estudios de maestría en la
472 Universidad Autónoma de Yucatán.

473

474
 475
 476
 477
 478
 479
 480
 481
 482
 483
 484

Tabla 1. Ooquistes por gramo de heces* en pollos Leghorn infectados con *Eimeria* spp. Experimento 1

Tratamiento	Día posterior a la infección			
	7	9	12	14
Coccidiostato (C)	3.49	2.04	1.72	1.81
Sin coccidiostato (SC)	3.92	2.17	1.61	1.19
Nivel de extracto de <i>Enterolobium cyclocarpum</i> (mg/kg)				
150	4.20	1.36	1.03	0.90
300	3.08	1.13	1.70	1.35
450	3.35	2.56	1.51	1.09
Promedio (EC)	3.59	1.68	1.24	1.11
EEM	0.0614	0.0627	0.0707	0.0852
Contrastes pre-planeados		Valor P		
C vs EC	0.6687	0.1002	0.2540	0.4996
SC vs EC	0.9498	0.1968	0.1947	0.0126
C vs SC	0.7635	0.7476	0.8907	0.1009
Lineal EC	0.5810	0.0283	0.1916	0.5644

* Transformados a \log^{10} para análisis estadístico. La Tabla presenta valores en números naturales en miles. EEM: error estándar de la media.

485

486
487
488
489
490
491
492
493
494
495
496

Tabla 2. Consumo de alimento acumulado promedio (g) en pollos Leghorn, desde el día 1 hasta el día 7, 9, 12 y 14 post infección. Experimento 1

Tratamiento	Día posterior a la infección			
	7	9	12	14
Coccidiostato (C)	21.04	66.40	127.02	215.23
Sin coccidiostato (SC)	21.37	71.24	144.01	232.84
Nivel de extracto de <i>Enterolobium cyclocarpum</i> (mg/kg)				
150	20.86	65.76	125.91	209.44
300	20.85	68.96	135.58	227.28
450	21.53	71.14	136.68	215.46
Promedio (EC)	21.08	68.62	132.72	217.39
EEM	2.0194	3.4193	5.1186	12.4668
Contrastes pre-planeados		Valor P		
C vs EC	0.9874	0.5818	0.3500	0.8823
SC vs EC	0.9035	0.5174	0.0755	0.3004
C vs SC	0.9109	0.3328	0.0331	0.3337
Lineal EC	0.8190	0.2828	0.1579	0.7376

EEM: error estándar de la media.

497

Tabla 3. Peso vivo en pollos Leghorn. Experimento 1

Tratamiento	Peso inicial (g)	Peso final (g)	Ganancia de peso (g)
Coccidiostato (C)	34.54	123.23	88.69
Sin coccidiostato (SC)	34.31	116.75	82.44
Nivel de extracto de <i>Enterolobium cyclocarpum</i> (mg/kg)			
150	34.66	111.01	76.35
300	34.53	112.62	78.09
450	34.42	114.47	80.05
Promedio (EC)	34.54	112.70	78.16
EEM	0.2713	1.9518	1.9870
Contrastes pre-planeados		Valor P	
C vs EC	0.9917	0.0003	0.0004
SC vs EC	0.4853	0.0925	0.0822
C vs SC	0.5621	0.0329	0.0416
Lineal EC	0.05494	0.2286	0.2080

EEM: error estándar de la media.

498

Tabla 4. Ooquistes por gramo de heces* en pollos Leghorn infectados con *Eimeria* spp. Experimento 2

Tratamiento	Día posterior a la infección		
	7	10	13
Coccidiostato (C)	11.08	3.61	4.37
Sin coccidiostato (SC)	35.63	14.87	36.87
Nivel de extracto de <i>Enterolobium cyclocarpum</i> (mg/kg)			
150	29.94	9.41	6.14
300	28.96	24.90	20.05
450	29.74	33.06	3.62
Promedio (EC)	29.60	22.46	10.36
Nivel 300+Polietilenglicol (E300PEG)	15.75	11.63	7.65
EEM	0.1528	0.2481	0.2167
Contrastes pre-planeados		Valor P	
C vs EC	0.0010	<.0001	0.1724
C vs E300PEG	0.0081	0.0001	0.4871
SC vs EC	0.6891	0.7417	0.0026
SC vs E300PEG	0.1782	0.4487	0.0215

EC vs E300PEG 0.2118 0.2157 0.7573

* Transformados a \log^{10} para análisis estadístico. La Tabla presenta valores en números naturales en miles. EEM: error estándar de la media.

499
500
501
502
503
504
505
506
507

Tabla 5. Peso vivo, ganancia de peso y consumo de alimento en pollos Leghorn durante 13 días de infección por *Eimeria* spp. Experimento 2

Tratamiento	Peso inicial (g)	Peso final (g)	Ganancia de peso (g)	Consumo de alimento (g)	Conversión alimenticia
Coccidiostato (C)	43.58	140.97	97.38	545.50	5.60
Sin Coccidiostato (SC)	43.0	125.53	82.53	593.42	7.23
Nivel de extracto de <i>Enterolobium cyclocarpum</i> (mg/kg)					
150	41.83	124.75	82.92	521.63	6.34
300	42.72	122.76	80.04	524.86	6.57
450	42.79	129.47	86.67	557.78	6.44
Promedio (EC)	42.45	125.66	83.21	534.76	6.45
Nivel 300+ Polietilenglicol (E300PEG)	43.84	140.64	96.79	440.83	4.54
EEM	0.5366	2.7063	2.4771	27.2734	0.3499

Contrastes pre-planeados	Valor P				
C vs EC	0.8382	0.0001	0.0001	0.7369	0.0497
C vs E300PEG	0.1884	0.9333	0.8687	0.0142	0.0470
SC vs EC	0.8496	0.9671	0.8143	0.0749	0.0711
SC vs E300PEG	0.3117	0.0009	0.0007	0.0009	<.0001
EC vs E300PEG	0.1596	0.0001	0.0002	0.0080	0.0002

EEM: error estándar de la media.

508

509

510

511

512

513

514

515 Referencias

516 Abbas, A., Iqbal, Z., Abbas, R. Z., Khan, M. K., Khan, J. A., Sindhu, Z. ud D.,

517 Saleemi, M. K., 2017. In vivo anticoccidial effects of *Beta vulgaris* (sugar beet) in

518 broiler chickens. *Microb. Pathog.*, 111, 139–144. Doi:

519 10.1016/j.micpath.2017.07.052

520 Abbas, R., Iqbal, Z., Khan, A., Sindhu, Z., Khan, J., Khan, M. and Raza, A., 2012.

521 Options for Integrated Strategies for the Control of Avian Coccidiosis. *Int. J. Agric.*

522 *Biol.*, 14, 1014–1020. ISSN Online 1814–9596.

523 Ahad, S., Tanveer, S., Malik, T. A., & Nawchoo, I. A., 2018. Anticoccidial activity of

524 fruit peel of *Punica granatum* L. *Microb. Pathog.*, 116, 78–83.

525 Doi:10.1016/j.micpath.2018.01.015

526 Ahad, S., Tanveer, S., Nawchoo, I., Malik, T., 2017. Anticoccidial activity of

527 *Artemisia vestita* (Anthemideae, Asteraceae)- a traditional herb growing in the

528 Western Himalayas, Kashmir, India. *Microb. Pathog.*, 104, 289-295. Doi:
529 10.1016/j.micpath.2017.01.053

530 Akhtar, .M, Hai, A., Awais, M., Iqbal, Z., Muhammad, F., Haq, A. and Anwar, M.,
531 2012. Immunostimulatory and protective effects of Aloe vera against coccidiosis in
532 industrial broiler chickens. *Vet. Parasitol.*, 186, 170– 177. Doi:
533 10.1016/j.vetpar.2011.11.059

534 Albores-Moreno, S., Alayón-Gamboa, J. A., Ayala-Burgos, A. J, Solorio-Sánchez,
535 F. J., Aguilar-Pérez, C. F., Olivera-Castillo, L. and Ku-Vera, J. C., 2017. Effects of
536 feeding ground pods of *Enterolobium cyclocarpum* Jacq. Griseb on dry matter
537 intake, rumen fermentation, and enteric methane production by Pelibuey sheep fed
538 tropical grass. *Trop. Anim. Health Prod.*, 49, 857–866. Doi: 10.1007/s11250-017-
539 1275-y

540 Alfaro, D., Silva, A., Borges, S., Maiorka, F., Vargas, S. and Santin, E., 2007. Use
541 of *Yucca schidigera* extract in broiler diets and its effects on performance results
542 obtained with different coccidiosis control methods. *J. Appl. Poult. Res.*, 16, 248-
543 254. Doi: 10.1093/japr/16.2.248

544 Alonso-Díaz, M.A., Torres-Acosta, J.F.J., Sandoval-Castro, C.A. and Hoste, H.,
545 2010. Tannins in tropical tree fodders fed to small ruminants: a friendly foe? *Small*
546 *Ruminant Res.*, 89, 164–173. Doi: 10.1016/j.smallrumres.2009.12.040

547 Arabkhazaeli, F., Nabian, S., Modirsaneii, M., Mansoori, B., and Rahbari, S., 2011.
548 Biopathologic Characterization of Three Mixed Poultry *Eimeria* spp. Isolates. *Iran J.*
549 *Parasitol.*, 6(4), 23–32. PMID: PMC3279901

550 Awais, M., Akhtar, M., Muhammad, F., Haq, A. and Anwar, M., 2011.
551 Immunotherapeutic effects of some sugar cane (*Saccharum officinarum* L.)

552 extracts against coccidiosis in industrial broiler chickens. *Exp. Parasitol.*, 128, 104–
553 110. Doi: 10.1016/j.exppara.2011.02.024

554 Barbour, E.K., Ayyash, D.B., Iyer, A., Harakeh, S., and Kumosani, T., 2015. A
555 Review of Approaches Targeting the Replacement of Coccidiostat Application in
556 Poultry Production. *Braz. J. Poultry Sci.*, 17(4), 405-418. Doi:10.1590/1516-
557 635x1704405-418

558 Bedford, M. Choct, M. and O’Neill, H., 2016. Nutrition experiments in pigs and
559 poultry. CABI International. London, UK.

560 Blake, D. and Tomley, F., 2014. Review. Securing poultry production from the
561 ever-present *Eimeria* challenge. *Trends Parasitol.*, 30(1), 12-19. Doi:
562 10.1016/j.pt.2013.10.003

563 Bozkurt M, Ege G, Aysul N, Akşit H, Tüzün AE, Küçükyılmaz K, Borum AE, Uygun
564 M, Akşit D, Aypak S, Şimşek E, Seyrek K, Koçer B, Bintaş E, Orojpour A., 2016.
565 Effect of anticoccidial monensin with oregano essential oil on broilers
566 experimentally challenged with mixed *Eimeria* spp. *Poult. Sci.*, 95(8), 1858-68. Doi:
567 10.3382/ps/pew077

568 Bozkurt, M., Selek, N., Küçükyılmaz, K., Eren, H., Güven, E., Çatli, A.U. and Çinar,
569 M., 2012. Effects of dietary supplementation with a herbal extract on the
570 performance of broilers infected with a mixture of *Eimeria* species. *Br. Poult. Sci.*,
571 53(3), 325-332. Doi: 10.1080/00071668.2012.699673

572 Brisibe, E.A., Umoren, E.U., OWAI, P.U. and Brisibe, F., 2008. Dietary inclusion of
573 dried *Artemisia annua* leaves for management of coccidiosis and growth
574 enhancement in chickens. *Afr. J. of Biotechnol.*, 7, 4083-4092. Consultado en:
575 <http://www.academicjournals.org/AJB>

576 Carvajal, L., Hata, Y., Sierra, N. y Rueda, D., 2009. Análisis fitoquímico preliminar
577 de hojas, tallos y semillas de cupatá (*strychnos schultesiana krukoff*). Colomb.
578 For., 12, 161-170. Doi: <http://www.scielo.org.co/pdf/cofo/v12n1/v12n1a11.pdf>
579 Cervantes, H., 2015. Antibiotic-free poultry production: Is it sustainable?. J. Appl.
580 Poultry Res., 24(1), 91–97. Doi: 10.3382/japr/pfv006
581 Chamorro, S., Viveros, A., Centeno, C., Romero, C., Arija, I. and Brenes, A., 2013.
582 Effects of dietary grape seed extract on growth performance, amino acid
583 digestibility and plasma lipids and mineral content in broiler chicks. Animal, 7(4),
584 555–561. Doi: 10.1017/S1751731112001851
585 Conway, D. and McKenzie, M., 2007. Poultry coccidiosis. Diagnostic and Testing
586 Procedures, 3rd ed. Blackwell Publishing. USA. pp.17-32.
587 Conway, D., Sasai, K., Gaafar, S. and Smothers, C., 1993. Effects of Different
588 Levels of Oocyst Inocula of *Eimeria acervulina*, *E. tenella*, and *E. maxima* on
589 Plasma Constituents, Packed Cell Volume, Lesion Scores, and Performance in
590 Chickens. Avian Dis., 37(1), 118-123. Doi: <http://www.jstor.org/stable/1591464>
591 Croubels, S., and Daeseleire, E., 2012. Veterinary drug residues in foods.
592 Chemical Contaminants and Residues in Food, 148–182.
593 Doi:10.1533/9780857095794.2.148
594 De Almeida, G., Horsted, K., Thamsborg, S., Kyvsgaard, N., Ferreira, J. and
595 Hermansen, J., 2012. Use of *Artemisia annua* as a natural coccidiostat in free-
596 range broilers and its effects on infection dynamics and performance. Vet.
597 Parasitol., 186, 178– 187. Doi: 10.1016/j.vetpar.2011.11.058
598 De la Mora, V., J. R. Orozco Hernandez, J. de Jesus Uribe-Gomez, V. O. Fuentes
599 Hernandez, and Taylor Preciado, A., 2011. Steroidal sapogenines to prevent

600 coccidia in poultry. Technical note. Rev. Cient. (Maracaibo), 21(2):115-117. Doi:
601 <http://www.cientificaonline.com/index.php/CIENTIFICA/article/view/418/418>

602 De pablos, L., Brazil, M., Montero, E., García, A., Parra, A. and Osuna, A., 2010.
603 Anticoccidial activity of maslinic acid against infection with *Eimeria tenella* in
604 chickens, Parasitol. Res., 107, 601-604. Doi: 10.1007/s00436-010-1901-3

605 Figueroa-Castillo, J.A., Jasso-Villazul, C., Liébano-Hernández, E., Martínez-Labat,
606 P., Rodríguez-Vivas, R.I. Zárata-Ramos, J.J. 2015. Capítulo 3: Examen
607 coproparasitoscópico En: Técnicas para el diagnóstico de parásitos con
608 importancia en salud pública y veterinaria. Rodríguez-Vivas R.I. Editor. AMPAVE-
609 CONASA. México, D.F. pp. 78-128.

610 Francis, G., Kerem, Z., Makkar, H. P. S. and Becker, K., 2002. The biological
611 action of saponins in animal systems: a review. Br. J. Nutr., 88(6), 587-605. Doi:
612 10.1079/BJN2002725

613 Giannenas, I., Florou-Paneri, P., Papazahariadou, M., Christaki, E., Botsoglou,
614 N.A. and Spais, A.B., 2003. Effect dietary supplementation with oregano essential
615 oil on performance of broilers after experimental infection with *Eimeria tenella*.
616 Arch. Anim. Nutr., 57, 99–106. Doi: 10.1080/0003942031000107299

617 Györke, A., Kalmár, Z., Pop, L., Şuteu, O., 2016. The economic impact of infection
618 with *Eimeria* spp. in broiler farms from Romania. R. Bras. Zootec., 45(5). Doi:
619 10.1590/S1806-92902016000500010

620 Habibi H, Firouzi S, Nili H, Razavi M, Asadi SL, Daneshi S., 2014. Anticoccidial
621 effects of herbal extracts on *Eimeria tenella* infection in broiler chickens: *in vitro*
622 and *in vivo* study. J. Parasit. Dis., 40(2), 401-7. Doi: 10.1007/s12639-014-0517-4.

623 Hagerman, A. E., 2012. Fifty years of polyphenol-protein complexes. p.71-97. In:
624 Recent advances in polyphenol research. vol. 3. 3rd ed. Cheynier, V.; Sarni-
625 Machado, P. and Quideau, eds. John Wiley & Sons, Ltd., Oxford, UK.
626 Recuperado en:
627 <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1002/9781118299753.ch3>
628 Hassan, I., Elzubeir, E. and El Tinay, A., 2003. Growth and apparent absorption of
629 minerals in broiler chicks fed diets with low or high tannin contents. Trop. Anim.
630 Health Prod., 35, 189-196. Doi: 10.1023/A:1022833820757
631 Hassan, S., El-Gayar, A., Cadwell, D., Bailey, C. and Cartwright, A., 2008. Guar
632 meal ameliorates *Eimeria tenella* infection in broiler chicks. Vet. Parasitol., 157,
633 133-138. Doi: 10.1016/j.vetpar.2008.07.005
634 Hess, H., Kreuzer, M., Díaz, T., Lascano, C., Carulla, J., Soliva, C. and
635 Machmüller, A., 2003. Saponin rich tropical fruits affect fermentation and
636 methanogenesis in faunated and defaunated rumen fluid. Anim. Feed Sci.
637 Technol., 109(2003), 79–94. doi:10.1016/S0377-8401(03)00212-8
638 Holdsworth, P., Conway, D., McKenzie, M., Dayton, A., Chapman, H., Mathis,
639 G., Skinner, J., Mundt, H., Williams, R.; World Association for the Advancement of
640 Veterinary Parasitology (WAAVP)., 2004. Guidelines for evaluating the efficacy of
641 anticoccidial drugs in chickens and turkeys. Vet. Parasitol., 121, 189-212. Doi:
642 10.1016/j.vetpar.2004.03.006
643 Hu, X. L., Liu, G., Wang, W. X., Zhou, R., Liu, S. Q., Li, L. H., and Hu, D. F., 2015.
644 Methods of preservation and flotation for the detection of nematode eggs and
645 coccidian oocysts in faeces of the forest musk deer. J. Helminthol., 90(06), 680–
646 684. Doi: 10.1017/s0022149x15000942

647 Instituto Nacional de Estadística y Geografía, INEGI., 2017. Anuario estadístico y
648 geográfico de Yucatán 2017. Consultado en:
649 http://www.datatur.sectur.gob.mx/ITxEF_Docs/YUC_ANUARIO_PDF.pdf
650 Jayanegara, A., Wina, E. and Takahashi, J., 2014. Meta-analysis on Methane
651 Mitigating Properties of Saponin-rich Sources in the Rumen: Influence of Addition
652 Levels and Plant Sources. *Asian-Australas. J. Anim. Sci.*, 27(10), 1426-1435. Doi:
653 10.5713/ajas.2014.14086
654 Johnson, J. and Reid, M., 1970. Anticoccidial Drugs: Lesion Scoring Techniques in
655 Battery and Floor-Pen Experiments with Chickens. *Exp. Parasitol.*, 28, 30-36. Doi:
656 10.1016/0014-4894(70)90063-9
657 Kaboutari, J., Arab, H. A., Ebrahimi, K., and Rahbari, S., 2013. Prophylactic and
658 therapeutic effects of a novel granulated formulation of *Artemisia extract* on broiler
659 coccidiosis. *Trop. Anim. Health Prod.*, 46(1), 43–48. Doi:10.1007/s11250-013-
660 0444-x
661 Kadykalo, S., Roberts, T., Thompson, M., Wilson, J., Lang, M. and Espeised, O.,
662 2018. The value of anticoccidials for sustainable global poultry production. *Int. J.*
663 *Antimicrob. Agents*, 51(3). Doi: 10.1016/j.ijantimicag.2017.09.004
664 Kaleem Q.M., Akhtar M., Awais M.M., Saleem M., Zafar M., Iqbal Z., Muhammad
665 F. and Anwar Ml., 2014. Studies on *Emblica officinalis* derived tannins for
666 their immunostimulatory and protective activities against coccidiosis in industrial
667 broiler chickens. *Sci. World J.*, 1- 10. Doi: 10.1155/2014/378473
668 Kant, V., Singh, P., Verma, P., Bais, I., Parmar, M., Gopal, A. and Gupta, V., 2013.
669 Anticoccidial Drugs Used in the Poultry: An Overview. *Sci. Int.*, 1, 261-265. Doi:
670 10.17311/sciintl.2013.261.265

671 Karimy, M.F., Julendra, H., Hayati, S.N., Sofyan A., Damayanti, E. and
672 Priyowidodo, D., 2013. Effectivity of water soluble granule from kenikir leaves
673 extract (*Cosmos caudatus*), noni leaves extract (*Morinda citrifolia*) and earthworm
674 meal extract (*Lumbricus rubellus*) as a natural coccidiostat for broiler chickens
675 against infection caused by *Eimeria*. JITV., 18, 88-98. Doi: 10.14334/jitv.v18i2.308
676 Koenig, K. M., Ivan, M., Teferedegne, B. T., Morgavi, D. P., Rode, L. M., Ibrahim, I.
677 M. y Newbold, C. J., 2007. Effect of dietary *Enterolobium cyclocarpum* on microbial
678 protein flow and nutrient digestibility in sheep maintained fauna-free, with total
679 mixed fauna or with *Entodinium caudatum* monofauna. Br. J. Nutr., 98(03), 504.
680 doi: 10.1017/S0007114507723930
681 Kostadinovic, L., Puvaca, N., Popovic, S. and Levic, J., 2015. Botanical
682 supplements as anti-coccidial alternatives in poultry nutrition. Worlds Poult. Sci. J.,
683 71, 27-36. Doi: 10.1017/S0043933915000033
684 Lan, L., Zuo, B., Ding, H., Huang, Y., Chen, X. and Du, A., 2016. Anticoccidial
685 evaluation of a traditional Chinese medicine-*Brucea javanica*-in broilers. Poult. Sci.,
686 95, 811-818. Doi: 10.3382/ps/pev441
687 Lazos-Balbuena, F., 2016. Uso del fruto de *Enterolobium cyclocarpum* como
688 fuente de saponinas esteroidales para reducir la producción de metano entérico en
689 bovinos. Tesis de maestría. Universidad Autónoma de Yucatán. México.
690 Lee, S.H., Lillehoj, H.S., Jang, S.I., Kim, D.K., Ionescu, C. and Bravo, D., 2010.
691 Effect of dietary *Curcuma*, *Capsicum*, and *Lentinus* on enhancing local immunity
692 against *Eimeria acervulina* infection. J. Poult. Sci., 47, 89 –95. Doi:
693 10.2141/jpsa.009025

694 Makkar, H., 2003. Effects and fate of tannins in ruminant animals, adaptation to
695 tannins, and strategies to overcome detrimental effects of feeding tannin-rich
696 feeds. Review. Small Ruminant Res., 49, 241–256. Doi:10.1016/S0921-
697 4488(03)00142-1

698 Mansoori, B., Nodeh, H., Modirsanei, M., Kiaei, M and Farkhoy, M., 2007.
699 Evaluating the influence of tannic acid alone or with polyethylene glycol on the
700 intestinal absorption capacity of broiler chickens, using d-xylose absorption test.
701 Anim. Feed Sci. Technol., 134, 252–260. Doi: 10.1016/j.anifeedsci.2007.01.004

702 Mao, H.-L., Wang, J.-K., Zhou, Y.-Y., & Liu, J.-X., 2010. Effects of addition of tea
703 saponins and soybean oil on methane production, fermentation and microbial
704 population in the rumen of growing lambs. Livest. Sci., 129(1-3), 56–62. Doi:
705 10.1016/j.livsci.2009.12.011

706 Mathis, G., Newman, L., Fitz-Coy, S., Lumpkins, B., Charette, R. and Fuller, L.,
707 2018. Comparison of breeder/layer coccidiosis vaccines: Part 1 -precocity and
708 pathogenicity. J. Appl. Poultry Res., 27, 33-37. Doi: 10.3382/japr/pfx037

709 Medina, N., González, C., Dazar, S., Restrepo, O. y Barahona, R., 2014.
710 Desempeño productivo de pollos de engorde suplementados con biomasa de
711 *Saccharomyces cerevisiae* derivada de la fermentación de residuos de banano.
712 Rev. Med. Vet. y Zoot., 6(13), 270-283. Doi: 10.15446/rfmvz.v61n3.46873

713 Mena, L., Tamargo, B., Salas E., Plaza L., Blanco Y., Otero, A., y Sierra, G., 2015.
714 Determinación de saponinas y otros metabolitos secundarios en extractos acuosos
715 de *Sapindus saponaria* L. (jaboncillo). Rev. Cubana Plant. Med., 20(1). Doi:
716 http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962015000100010

717 Mohiti-Asli, M. and Ghanaatparast-Rashti, M., 2015. Dietary oregano essential oil
718 alleviates experimentally induced coccidiosis in broilers. *Prev. Vet. Med.*,120(2),
719 195-202. Doi: 10.1016/j.prevetmed.2015.03.014

720 Monforte-Briceño, G., Sandoval-Castro, C., Ramírez-Avilés, L. and Capetillo-Leal,
721 C., 2005. Defaunating capacity of tropical fodder trees: Effects of polyethylene
722 glycol and its relationship to in vitro gas production. *Anim. Feed Sci. Technol.*,
723 123(Part 1), 313-327. Doi: 10.1016/j.anifeedsci.2005.04.016

724 Muthamilselvan, T., Kuo, T., Wu, Y. and Yang, W., 2016. Herbal Remedies for
725 Coccidiosis Control: A Review of Plants, Compounds and Anticoccidial Actions.
726 *Evid.-based Complement. Altern. Med.* Doi: 10.1155/2016/2657981

727 Naidoo, V., McGaw, L.J., Bisschop, S.P.R, Duncan, N., Eloff, J.N., 2008. The value
728 of plant extracts with antioxidant activity in attenuating coccidiosis in broiler
729 chickens. *Vet. Parasitol.*, 153, 214–219. Doi: 10.1016/j.vetpar.2008.02.013

730 Naumann, H., Tedeschi, L., Zeller, W. and Huntley, N., 2017. The role of
731 condensed tannins in ruminant animal production: advances, limitations and future
732 directions. *Rev. Bras. Zootecn.*, 46(12). Doi: [http://dx.doi.org/10.1590-s1806-](http://dx.doi.org/10.1590/s1806-92902017001200009)
733 92902017001200009

734 Oduguwa, O., Pirgozliev, V. and Acamovic, T., 2007: Energy metabolisability and
735 digestibility of amino acids by broilers fed on malted sorghum sprouts
736 supplemented with polyethylene glycol, charcoal, phytase and xylanase. *Br. Poult.*
737 *Sci.*, 48(1), 55-63. Doi: 10.1080/00071660601148179

738 Ojmelukwe, A., Emedhem, D., Agu, G., Nduka, F., and Abah, A., 2018.
739 Populations of *Eimeria tenella* express resistance to commonly used anticoccidial

740 drugs in southern Nigeria. Int. J. Vet. Sci. Med., 6(2), 192-200. Doi:
741 10.1016/j.ijvsm.2018.06.003

742 Orengo, J., Buendía, A., Ruiz-Ibáñez, M., Madrid, J., Del Río, L., Catalá Gregori,
743 P., García, V. and Hernández, F. (2012). Evaluating the efficacy of cinnamaldehyde
744 and *Echinacea purpurea* plant extract in broilers against *Eimeria acervulina*. Vet.
745 Parasitol., 185, 158-163. Doi: 10.1016/j.vetpar.2011.09.024

746 Pasaribu, T., Astuti, D., Wina, E., Sumiati, and Setiyono, A., 2014. Saponin content
747 of *Sapindus rarak* pericarp affected by particle size and type of solvent, its
748 biological activity on *Eimeria tenella* oocysts. Int. J. Poult. Sci. 13:347-352. Doi:
749 10.3923/ijps.2014.347.352

750 Peek, H. and Landman, W., 2011. Coccidiosis in poultry: anticoccidial products,
751 vaccines and other prevention strategies. Vet. Q., 31(3):143-161, Doi:
752 10.1080/01652176.2011.605247

753 Pen, B., Sar, C., Mwenya, B. and Takahashi, J., 2008. Effects of *Quillaja saponaria*
754 extract alone or in combination with *Yucca schidigera* extract on ruminal
755 fermentation and methanogenesis in vitro. Anim. Sci. J., 79, 193–199. Doi:
756 10.1111/j.1740-0929.2008.00517.x

757 Pirali Kheirabadi K, Kaboutari Katadj J, Bahadoran S, Teixeira da Silva JA,
758 Dehghani Samani A, Cheraghchi Bashi M., 2014. Comparison of the anticoccidial
759 effect of granulated extract of *Artemisia sieberi* with monensin in experimental
760 coccidiosis in broiler chickens. Exp Parasitol., 141, 129-33. Doi:
761 10.1016/j.exppara.2014.03.022

762 Price, M. L., Scoyoc, S. V. y Butler, L. G., 1978. A Critical Evaluation of the Vanillin
763 Reaction as an Assay for Tannin in Sorghum Grain. J. Agric. Food Chem., 26(5),
764 1214–1218. Doi:10.1021/jf60219a03

765 Rakhmani, S., Wina, E. and Pasaribu, T., 2014. Preliminary study on several
766 Indonesian plants as feed additive and their effect on *Eimeria tenella* oocysts. In:
767 Sustainable Livestock Production in the Perspective of Food Security, Policy,
768 Genetic Resources and Climate Change. Proceedings of the 16th AAAP Animal
769 Science Congress. Vol. II. Yogyakarta, 10-14 November 2014. Yogyakarta
770 (Indonesia): Gadjah Mada University. p. 656-659. Doi: 10.13140/2.1.4072.224

771 Rostagno, H., Teixeira, L., Hannas, M., López, J., Sakomura, N., Perazzo, F.,
772 Saraiva, A., Teixeira, M., Borges, P., De oliveira, R., De toledo, S. y De Oliveira,
773 C., 2017. Tablas brasileñas para aves y cerdos. 4ta Edition. Consultado en:
774 [https://eliasnutri.files.wordpress.com/2012/04/tablas-brasilec3b1as-aves-y-cerdos-](https://eliasnutri.files.wordpress.com/2012/04/tablas-brasilec3b1as-aves-y-cerdos-cuarta-edicion-2017-1.pdf)
775 [cuarta-edicion-2017-1.pdf](https://eliasnutri.files.wordpress.com/2012/04/tablas-brasilec3b1as-aves-y-cerdos-cuarta-edicion-2017-1.pdf)

776 SAS Insitute Inc., 2010. SAS ® 9.2 Language References: Concepts, Second
777 Edition. Cary, NC: SAS Institute Inc.

778 Scheurer, W., Spring, P. and Maeterns, L., 2013. Effect of 3 dietary phytogetic
779 products on production performance and coccidiosis challenged broiler chickens. J.
780 Appl. Poultry Res., 22(1), 591:599. Doi: 10.3382/japr.2013-00726

781 Sharman, P. Smith, N., Wallach, M. and Katrib, M., 2010. Chasing the golden egg:
782 vaccination against poultry coccidiosis. A review article. Parasite Immunol., 32,
783 590–598. Doi:10.1111/j.1365-3024.2010.01209.x

784 Shirmohammadli, Y., Efhamisisi, D., & Pizzi, A., 2018. Tannins as a sustainable
785 raw material for green chemistry: A review. *Industrial Crops and Products*, 126,
786 316–332. Doi: 10.1016/j.indcrop.2018.10.034

787 Singh, Y., Ravindran, V., and Molan, A.L., 2015. Influence of whole wheat feeding
788 on the development of coccidiosis in broilers challenged with *Eimeria*. *Res. Vet.*
789 *Sci.*, 100, 125–130. Doi: 10.1016/j.rvsc.2015.03.006

790 STATGRAPHICS® Centurión XVI User Manual.

791 Swaggerty, C., Pevzner, I. and Kogut, M., 2015. Selection for pro-inflammatory
792 mediators produces chickens more resistant to *Eimeria tenella*. *Poult. Sci.*, 94, 37-
793 42. Doi: 10.3382/ps/peu053

794 Wall, M., Krider, M., Rothman, E., and Eddy, C., 1952. Steroidal sapogenins. I.
795 Extraction, isolation and identification. *J. Biol. Chem.*, 198, 533-543. Consultado
796 en: <http://www.jbc.org/content/198/2/533.full.pdf>

797 Wallace, R.J., Oleszek, W., Franz, C., Hahn, I., Baser, K.H.C., Mathe, A. and
798 Teichmann, K., 2010. Dietary plant bioactives for poultry health and productivity.
799 *Brit. Poultry Sci.*, 51(4), 461-487. Doi: 10.1080/00071668.2010.506908

800 Wang, X., Kiess, A., Peebles, E., Wamsley, K. and Zhai, W., 2018. Effects of
801 *Bacillus subtilis* and zinc on the growth performance, internal organ development,
802 and intestinal morphology of male broilers with or without subclinical coccidia
803 challenge. *Poult. Sci.*, 97(11), 3947-3956. Doi: 10.3382/ps/pey262

804 Wang, Y., Xiang, L., Yi, X. and He, X., 2017. Potential Anti-inflammatory Steroidal
805 Saponins from the Berries of *Solanum nigrum* L. (European Black Nightshade). *J.*
806 *Agric. Food Chem.*, 65(21), 4262–4272. Doi: 10.1021/acs.jafc.7b00985

807 Wina, E., Muetzel, S. and Becker, K., 2005. The impact of saponins or saponin-
808 containing plant materials on ruminant production a review. J. Agric. Food Chem.,
809 53(21), 8093-8105. Doi: 10.1021/jf048053d

810 Witcombe, D. and Smith, N., 2014. Strategies for anti-coccidial prophylaxis.
811 Parasitology, 141, 1379-1389. Doi: 10.1017/S0031182014000195

812 Yim, D., Kang, S., Kim, D., Kim, S., Lillehoj, H. and Min, W., 2011. Protective
813 effects of Aloe vera-based diets in *Eimeria maxima*-infected broiler chickens. Exp.
814 Parasitol., 127(1), 322-5. Doi: 10.1016/j.exppara.2010.08.010

815 Youn, H. and Noh, J., 2001. Screening of the anticoccidial effects of herb extracts
816 against *Eimeria tenella*. Vet. Parasitol., 96, 257-263. Doi: 10.1016/S0304-
817 4017(01)00385-5

818 Yun, C., Lillehoj, H. and Lillehoj, E., 2000. Intestinal immune response to
819 coccidiosis. Dev. Comp. Immunol., 24, 303-324. Doi: 10.1016/S0145-
820 305X(99)00080-4

821 Zaman, M., Iqbal, Z., Abbas, R. and Khan, M., 2012. Anticoccidial activity of herbal
822 complex in broiler chickens challenged with *Eimeria tenella*. Parasitology, 139(2),
823 237-243. Doi:10.1017/S003118201100182X

824 Zarith, Z. M., Suhaila, A. H., Izzauddin, N. H. and Khadijah, S., 2017. Parasites
825 prevalence in poultry: focusing on free range turkeys (*Meleagris gallopavo*). MJVR,
826 8(9), 1-9. Recuperado en: <http://agris.upm.edu.my:8080/dspace/handle/0/15708>