

## **Efecto de diferentes niveles de aceites esenciales de *Lippia origanoides* kunth en pollos de engorde**

### **Effect of different levels of essential oils of *Lippia origanoides* kunth in broiler chicken**

Liliana Betancourt L,<sup>1,3\*</sup> D.Sc, Claudia Ariza N,<sup>2</sup> Ph.D, Gonzalo Díaz G,<sup>1</sup> Ph.D, Germán Afanador T,<sup>1</sup> Ph.D.

<sup>1</sup>Universidad Nacional de Colombia, carrera 30 No. 45 - 03 Edificio 516B, Bogotá, Colombia. <sup>2</sup>CORPOICA, km 14 vía Mosquera, Cundinamarca, Colombia. <sup>3</sup>Universidad de La Salle, kra 7 No. 174-85, Bogotá, Colombia. \*Correspondencia: lcbetancourt@unisalle.edu.co

Recibido: Agosto de 2011; Aceptado: Febrero de 2012.

#### **RESUMEN**

**Objetivo.** Determinar el nivel de inclusión de aceite esencial de *Lippia origanoides* Kunth (AEO) que maximice el peso corporal y la eficiencia económica. **Materiales y métodos.** Los AEO se obtuvieron por hidrodestilación y se analizaron por GC/MS. Se evaluaron cuatro niveles, 0, 100, 200 y 300 ppm de AEO en dos grupos de pollos; un grupo retado con ooquistes atenuados de coccidia y otro no retado. El nivel óptimo de inclusión fue estimado mediante una función sinusoidal. **Resultados.** La suplementación con 100 ppm de AEO redujo el impacto negativo del reto con ooquistes atenuados de coccidia sobre el peso corporal, 1.799, 1.889 y 1.995 g en los grupos retado sin AEO, retado + AEO y control, respectivamente ( $p < 0.001$ ). Se encontró una interacción significativa entre la suplementación con AEO y reto sobre el peso corporal y la conversión de alimento ( $p < 0.05$ ). El nivel de AEO que maximiza el peso corporal en los grupos de pollos no retados fue 65 ppm; mientras que para los grupos retados fue 147 ppm. **Conclusiones.** Se demostró que los AEO ricos en timol pueden ser un aditivo natural viable para la producción de carne de pollo.

**Palabras clave:** Aceites esenciales, *Eimeria*, pollos, timol (Fuente: Agrícola).

#### **ABSTRACT**

**Objective.** Determine the level of inclusion of essential oil of *Lippia origanoides* Kunth (AEO) to maximize body weight and economic efficiency. **Materials and methods.** The AEO was obtained by hydrodistillation and analyzed by GC / MS. Four levels, 0, 100, 200 and 300 ppm of AEO were evaluated in two groups of chickens, a group challenged with attenuated oocysts of coccidia and another unchallenged group. **Results.** Supplementation with 100 ppm of AEO reduced the negative impact of the challenge with attenuated oocysts of coccidia with body weight, 1,799, 1,889 and 1,995 g in the groups challenged without AEO, challenged + AEO and control, respectively ( $p < 0.001$ ). A significant interaction was identified between supplementation with AEO and challenge on body weight and feed conversion ( $p < 0.05$ ). The AEO level that maximizes the level of body weight in non-challenged chickens groups was 65 ppm; it was 147 ppm for the challenged group. **Conclusions.** It was shown that AEO, rich in thymol, can be a viable natural additive for the production of chicken meat.

**Key words:** Essential oils, *Eimeria*, broiler, thymol (Source: Agrícola).

## INTRODUCCIÓN

Los aceites esenciales son compuestos volátiles de plantas medicinales y se han propuesto como una alternativa natural al uso de antibióticos en la dieta de los animales (1). Tal vez la más importante característica de estos derivados de plantas medicinales es que son seguros, por lo que se les denomina como GRAS (Generalmente Reconocido como Seguro), por la FDA de Estados Unidos (2). Los aceites esenciales de orégano (AEO) se caracterizan por su contenido de carvacrol, timol y sus precursores el  $\gamma$ -terpineno y el p-cimeno, o por sabineno, cis- y trans-hidrato de sabineno y sus derivados (3). Los AEO presentan múltiples efectos funcionales: antiparasitario, antibacterial, antimicótico, estimulante de enzimas digestivas, atribuyendo esta actividad a los componentes mayoritarios: carvacrol y timol (4). En este sentido, a nivel mundial es aceptado que el orégano griego tiene las mejores calidades del aceite esencial, por su riqueza en carvacrol, siendo utilizado como aditivo en nutrición animal y en la preservación de alimentos contra la contaminación bacteriana (5, 6).

El género *Lippia* (familia Verbenaceae) presenta la mayor variedad de plantas en América tropical y subtropical e incluye aproximadamente 200 especies. Una característica del género es la diferencia observada en la composición de aceites esenciales reportada para la misma especie, en diferentes nichos geográficos. Mientras el género *Origanum* se cultiva en el mediterráneo, el género *Lippia* predomina y es cosechado de plantas silvestres en América Latina (7). Particularmente, *Lippia origanoides*, es un componente importante de la biodiversidad en Colombia, se encuentra ampliamente distribuido y es dominante en suelos con baja disponibilidad de agua (8) como es la microrregión del Alto Patía, habitada por una población marginada y deprimida económica y socialmente.

A pesar de que *Lippia* es un género adaptado a las condiciones tropicales y algunos nichos producen aceites esenciales con alto contenido de timol y bajo nivel de precursores, no se ha evaluado su actividad biológica y menos su inclusión en sistemas de alimentación para pollos de engorde.

De otra parte, en estudios previos dentro del grupo de investigación y en otros reportados en la literatura (9), bajo condiciones experimentales "limpias" no ha sido posible alcanzar resultados consistentes tanto con el uso de AEO, como de antibióticos en sistemas de alimentación

de pollos de engorde (resultados productivos no significativos respecto al control). En consecuencia, no hay un consenso sobre los niveles de inclusión de AEO, se reporta desde 50 ppm (9) hasta 300 ppm (10). Se sugiere que este amplio rango de inclusión es debido a las condiciones de higiene de los experimentos y a los diferentes vehículos utilizados para los AEO. En este sentido, para simular las condiciones comerciales de producción, diferentes investigadores han evaluado los AEO con un desafío como la inoculación con ooquistes de coccidia de origen vacunal o infeccioso (11, 10).

La industria ha centrado su atención en AEO ricos en carvacrol para utilizarlos como aditivo nutracéutico, pero no se han realizado estudios que evalúen el efecto de los AEO ricos en timol y sus niveles de inclusión en sistemas de alimentación de pollos de engorde. El presente estudio se planteó para determinar el nivel óptimo de inclusión de aceite esencial de *L. origanoides* kunth que maximice el desempeño productivo de pollos de engorde cuando son inoculados con ooquistes atenuados de coccidia.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Extracción y análisis de aceites esenciales.

El material vegetal se obtuvo en los meses de marzo y abril de la microrregión del Alto Patía, a una altura de 750 metros sobre el nivel del mar y una precipitación media anual de 1318 mm. El material se llevó para su clasificación a la unidad de taxonomía de la Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional de Colombia. La extracción del aceite esencial se hizo por el método de hidrodestilación durante 3 horas. Los aceites esenciales se enviaron para su análisis por cromatografía de gases acoplada a espectroscopia de masas en el Laboratorio de Cromatografía de la Universidad Industrial de Santander, con el fin de identificar los metabolitos secundarios y componentes principales de los AEO.

**Alojamiento y tratamientos.** Un total de 1.440 pollos de engorde machos de la estirpe Ross 308 de un día de edad fueron distribuidos aleatoriamente en 48 corrales en piso (30 pollos por corral) y se alimentaron a voluntad con dietas formuladas por fases (Tabla 1) de acuerdo con los requerimientos del NRC (12) durante un ciclo de producción de 35 días. Se evaluaron dos factores, el efecto de 4 niveles de inclusión de AEO, 0, 100, 200 y 300 ppm y la inoculación con ooquistes atenuados de coccidia

**Tabla 1.** Composición de las dietas experimentales

Ingrediente g kg <sup>-1</sup>	Pre-iniciación	Iniciación	Crecimiento
Maíz	539.1	566.5	621.8
Torta de soya, 49	277.1	254.0	203.2
Soya integral	100.0	100.0	105.0
Aceite de palma	17.9	21.7	18.8
H. de pescado	20.0	15.0	10.0
Fosfato dicálcico	14.3	13.6	12.0
Carbonato calcio	12.2	11.7	10.9
Premezcla vit,min	2.0	2.0	2.0
Sal	3.5	3.5	3.5
Bicarbonato de Na	3.0	3.0	3.0
L-Lisina HCl	1.9	1.2	1.0
DL- Metionina	2.1	1.5	1.5
L-Treonina	1.1	0.3	0.3
Cl Colina 60%	1.0	1.0	1.0
<b>Composición Calculada, %</b>			
Proteína	22.61	21.14	19.4
E.M, kcal/g	3.000	3.050	3.100
Extracto etéreo	6.67	6.95	6.50
Calcio,	0.96	0.90	0.82
Fósforo total	0.80	0.76	0.64
Fósforo disp.	0.48	0.45	0.41
BDE, mEq/kg	257	247	224
Lisina digestible	1.28	1.15	1.07
Metionina digestible	0.53	0.45	0.44
Met+cis digestible	0.81	0.72	0.70
Treonina digestible	0.83	0.74	0.70

\*Contenido por kg: Zinc 20.000 mg; Hierro: 8.400 mg; Manganeso: 35.000 mg; cobre: 1.700 mg; iodo: 430 mg; Selenio: 60 mg; vitamina A: 3.440.000UI; vitamina D3: 680.000UI; Vitamina E: 4.000UI; Colina: 172.000 mg; Niacina: 9.000 mg; Pantotenato de calcio: 3.060 mg; Vitamina B2: 1.430 mg; Vitamina B12: 1.430 mg; Vitamina K3: 856 mg; Vitamina B12: 4.6 mg.  
BDE: Balance dietario de electrolitos

(reto) y no inoculados. A los 16 días de edad se aplicó una dosis doble de ooquistes vacunales de coccidia que contenía  $9 \times 10^3$  ooquistes/mL con *E. máxima*, *E. tenella*, *E. acevulina* y *E. necatrix* a 6.3, 1.5, 0.7 y  $0.7 \times 10^3$  ooquistes viables/mL. Los pollos se distribuyeron en los 8 tratamientos, 6 réplicas y 30 pollos de engorde por cada réplica.

**Información recolectada.** Semanalmente se registró el consumo de alimento, el peso corporal, la mortalidad y se derivó la ganancia de peso corporal y la conversión alimenticia. En la primera semana se hizo una selección por peso corporal de aquellos pollos que presentaron menos de 100 g de peso, los cuales fueron sustraídos y descartados de los grupos experimentales. Al sacrificio, los pollos se fraccionaron, se separó la grasa abdominal y se fraccionó la pechuga con hueso. El rendimiento en canal se determinó como la relación entre el peso de la canal y el peso vivo en porcentaje. Con los resultados de las anteriores variables se evaluó la eficiencia económica con base en

la técnica de presupuestos parciales, la cual considera únicamente los costos e ingresos que difieren entre los tratamientos (13) y se calculó por grupo experimental y tratamiento, respectivamente. Con esta técnica se evaluó los efectos de la suplementación de AEO sobre la factibilidad técnica y económica de su uso en un sistema de producción comercial de pollo de engorde; basado en los costos e ingresos por réplica en cada tratamiento experimental. Para estimar el costo por kilogramo de pollo en pie por tratamiento se utilizó el modelo descrito por Marini (14).

$$C = (B/X) + c (Y_i)$$

Dónde:

C = Costo por kg de pollo en pie en pesos, \$

B = Costo del ave de un día, \$

X = Peso corporal del pollo a los 35 días de edad

Y = Conversión de alimento

c = Costo del alimento a los 35 días de edad

i = Tratamiento experimental

Finalmente se calculó el ingreso neto parcial (INP) como la diferencia entre el valor de la producción (kg de pollo en canal x el valor comercial / kg de pollo) y el costo por concepto de alimentación (valor del kg de alimento x consumo de alimento). El análisis de INP se hizo por cada réplica y los resultados se sometieron a análisis de varianza.

**Análisis estadístico.** Los resultados se analizaron por análisis de varianza usando el procedimiento General Linear Models de SAS versión 9.2. (15) bajo un diseño completamente al azar con arreglo factorial de 2 X 4. Para optimizar el nivel de inclusión en función del peso corporal, se utilizó y evaluó un modelo sinusoidal, el cual permite establecer los niveles que maximizan y minimizan el peso corporal. El modelo sinusoidal ha tenido una gran variedad de aplicaciones biológicas entre las cuales se puede mencionar: la construcción de una curva de crecimiento intrauterino en infantes (16); la valoración del índice de masa corporal para los recién nacidos de acuerdo con la edad de gestación (17); la producción de huevos de reproductores de carne (18) y en estudios de diversidad ecológica y de especies en vegetaciones sometidas a pastoreo (19), entre otras.

La mortalidad y los descartes fueron evaluadas mediante pruebas de Chi Cuadrado, comparando los grupos suplementados con AEO respecto a los no suplementados. Los resultados son presentados con el promedio  $\pm$  el error estándar.

## RESULTADOS

**Composición de AEO.** El material vegetal fue clasificado como *Lippia origanoides* Kunth y en su composición predominó el timol con 78.7% y los precursores, el p-cimeno con 6.6% y el  $\gamma$ -terpineno con 2.7%. Se destaca el contenido bajo en carvacrol con 0.9%. Con esta composición, se deduce un nivel de timol de 0, 78.7, 157.4 y 236 ppm en cada nivel de AEO utilizado en el presente estudio, 0, 100, 200 y 300 ppm, respectivamente.

**Comportamiento productivo de pollos de engorde.** El peso corporal de los pollos de engorde sometidos a diferentes niveles de inclusión de AEO y un reto con ooquistes atenuados de coccidia se observa en la tabla 2. Se observó que el desafío con ooquistes atenuados de coccidia redujo significativamente el peso corporal en todos los grupos experimentales el cual se expresó en mayor magnitud al final del ciclo de producción ( $p < 0.001$ ) con pesos de 1.799, 1.889 y 1.955 g, para pollos retados sin AEO, retados más 100 ppm de AEO y no retados-no suplementados, respectivamente.

**Tabla 2.** Efecto de diferentes niveles de inclusión de AEO en la dieta de pollos de engorde sobre el peso corporal.

Día	Retados				No retados			
	0	100	200	300	0	100	200	300
7	149	153	149	148	149	153	149	148
21	764	775	772	776	756	794	768	763
35	1799	1889	1858	1838	1955	1967	1875	1888
<b>Valor P</b>	<b>7d</b>	<b>21d</b>	<b>35d</b>					
Reto		0.8000	0.0001					
AEO	0.9405	0.0016	0.0002					
R*AEO		0.0400	0.0002					

Se encontró una respuesta diferencial a la suplementación con AEO en pollos de engorde inoculados con ooquistes atenuados de coccidia comparados con los no inoculados, porque la interacción entre estos dos factores evaluados fue significativa ( $p < 0.001$ ). La respuesta a los niveles de inclusión de AEO en cada grupo experimental (retados y no retados) fue estimada por la función sinusoidal. La función que estima los parámetros que son factibles de ser usados para interpretar la respuesta biológica en términos de peso corporal en pollos de engorde retados y con suplementación de AEO es de la forma:  $Y = 623.00 + 1.257.96 * \cos(0.0021X - 0.35)$  ( $R: 0.68, p < 0.05$  y  $RSD = 146.7$ ). Donde Y es el peso corporal y X es el nivel de inclusión de AEO. En este caso la máxima respuesta en peso corporal a los 35 días se estimó en 1.880 g a una

concentración de AEO de 147 ppm para pollos de engorde retados con ooquistes atenuados de coccidia. Este tipo de función aplicada al grupo de pollos de engorde no retados mostró un nivel óptimo de inclusión de AEO de 65 ppm para un peso máximo de 1.982 g. Por el contrario, el valor mínimo de peso corporal estimado para pollos de engorde no retados fue con una inclusión de 233 ppm y un peso corporal de 1.860 g. La función ajustada a la respuesta descrita para este grupo fue:  $Y = 1.921.44 + 61.02 * \cos(0.017X - 0.99)$  ( $R: 0.78, p < 0.01$  y  $RSD = 174.6$ ).

En la tabla 3 se presenta la conversión de alimento (g:g) para los pollos de engorde retados y no retados con la inclusión de distintos niveles de AEO. Se encontró un efecto positivo de la inclusión de 100 ppm de AEO sobre la conversión de alimento ( $p < 0.001$ ) tanto para grupos de pollos retados y no retados. Sin embargo, mientras que con los niveles de 200 y 300 ppm se mejoró la conversión de alimento en los pollos de engorde retados, no sucedió lo mismo con los pollos no retados, en los cuales se incrementó el valor de conversión de alimento; esto se ratifica con la significancia de la interacción tanto a los 21 como a los 35 días de edad ( $p < 0.05$ ).

**Tabla 3.** Efecto de diferentes niveles de inclusión de AEO (ppm) en la dieta de pollos de engorde sobre la conversión acumulada de alimento, g:g.

Periodo	Retados				No Retados			
	0	100	200	300	0	100	200	300
21 d	1.34	1.30	1.35	1.31	1.39	1.27	1.35	1.35
35 d	1.67	1.57	1.61	1.62	1.61	1.56	1.64	1.62
<b>Valor P</b>	<b>21d</b>	<b>35d</b>						
Reto	0.1419	0.3003						
AEO	0.0001	0.0001						
R*AEO	0.0078	0.0250						

### Rendimiento en canal y análisis económico.

En la tabla 4 se presentan los promedios obtenidos para las fracciones de la canal y parámetros de impacto económico. El porcentaje de mortalidad presentó un comportamiento diferente, en los pollos retados la inclusión de AEO incrementó el porcentaje de mortalidad ( $p < 0.05$ ), mientras que en los pollos de engorde no retados, la inclusión de 100 ppm de AEO redujo el porcentaje de mortalidad ( $p < 0.05$ ), pero la inclusión de 200 y 300 ppm de AEO no produjo diferencias significativas en la mortalidad respecto al grupo control, resaltando que la mayor causa de mortalidad encontrada fue por ascitis, debido a la presencia de plasma

**Tabla 4.** Rendimiento en canal e ingreso neto parcial de pollos de engorde alimentados con AEO.

Reto AEO	Retados				No retados				Valor P OEO	Valor P Reto	OEO*Reto	
	0 ppm	100 ppm	200 ppm	300 ppm	0 ppm	100 ppm	200 ppm	300 ppm				
Parámetro												
Rend Canal, %	68.2	69.1	67	69.7	68.9	69.2	68.4	68.2	0.215	0.77	0.228	
Pechuga,%	34.3	34.5	33.5	34.8	34.5	35.3	35	34.1	0.681	0.276	0.274	
Pierna-pernil, %	30.4	28.9	28.6	29	30.1	30.2	29.2	30.7	0.132	0.065	0.349	
Grasa abdominal,%	2.4	2.7	2.7	2.3	2.3	2.3	2	2.1	0.444	0.035	0.673	
Mortalidad,%	1.2	3.5	3.3	2.4	3.2	1.3	5	1.7	0.422	0.844	0.417	
Descartes, %	5.1	1.5	2.5	1.3	5.1	1.5	2.5	1.3	0.621	0.681	0.414	
Kg de pollo	95.3	98.3	92.3	98.1	95.6	103.5	93.9	98.4	0.017	0.285	0.714	
Kg de pechuga	47.9	49.1	46.2	49	47.7	52.7	47.9	49.3	0.034	0.151	0.463	
Kg pierna-pernil	42.4	41.1	39.4	40.9	41.8	45.2	40.1	44.4	0.059	0.043	0.241	
Ingreso Neto Parcial, miles	176.6	186	163.9	178.6	182.9	202.3	165.6	179.5	0.002	0.375	0.595	

en la cavidad torácico-abdominal. La adición de AEO en el alimento redujo significativamente el porcentaje de descartes ( $p < 0.05$ ), con un total de 8.3% de pollos inferiores a 100 g de peso corporal en primera semana, respecto a 2.9% en pollos de engorde suplementados con AEO. Se observó un efecto significativo del reto sobre la deposición de grasa abdominal, con 2.5% para pollos retados y 2.1% para pollos de engorde no retados ( $p < 0.05$ ). La suplementación con AEO no afectó los porcentajes de deposición de pechuga, pierna-pernil y rendimiento en canal. Sin embargo, los kg de pollo, pechuga y pierna-pernil fueron afectados positivamente por la inclusión de AEO ( $p < 0.05$ ).

La inclusión de AEO en el alimento afectó el INP ( $p < 0.01$ ), se determinó la función sinusoidal de la forma  $Y = 184.997 + 16.2036 \cdot \cos(2.1978X - 4.0239)$  donde Y es INP en miles de pesos y X el nivel de inclusión de AEO en ppm. A partir de esta función se estimó que el máximo INP fue de \$201.200 (US\$112.9) con un nivel de inclusión de 166 ppm de AEO. Para este parámetro no se encontró interacción entre los dos factores evaluados.

## DISCUSIÓN

Se destaca que el perfil de metabolitos secundarios del AEO utilizado en el presente estudio corresponde a un aceite de buena calidad, debido a que en 90% se expresaron 4 metabolitos dominantes, con predominio de timol. Otros estudios han reportado muchos más metabolitos secundarios en AEO, llegando a identificar hasta 56 compuestos en los AEO con diferencias cuantitativas significativas en sólo dos fenoles isoméricos, el carvacrol (0.1-56.6%) o fenol no cristizable y el timol (7.9-53.6%) o fenol cristizable; incluyendo sus precursores biosintéticos, el  $\gamma$ -terpineno y el

p-cimeno (20). En muestras de *L. graveolens* Kunth, procedentes de Jalisco, se reportó un contenido de timol superior al 30% (21). En contraste, Vernin et al (22) encontraron 45 compuestos que constituyeron el 92%-93% del aceite esencial de *Lippia graveolens* HBK; cuyos componentes principales fueron el carvacrol (71%) y el timol (5%). Como se puede observar, se estiman tantas composiciones en el AEO, como estudios sobre nichos de producción natural, debido posiblemente a que la regulación de la producción de aceites esenciales está integrada a la fisiología de la planta y depende del estado metabólico de la misma (23) y por ende su adaptación al ecosistema. En términos generales y a un nivel comercial, se sugiere que un buen AEO en el contexto multifuncional, es aquel que contiene al menos 55% de carvacrol + timol y una relación entre el carvacrol y el timol superior a 10 (6); sin embargo, a pesar de que estos dos metabolitos presentan efectos antioxidantes y antibacterianos, se ha dado mayor énfasis al carvacrol, debido posiblemente, a que la mayoría de estudios se han enfocado hacia la caracterización de variedades griegas, cuyo componente principal es el carvacrol y a la consistencia de los hallazgos experimentales, con este quimiotipo de orégano.

En el presente estudio se establecieron dosis diferenciales de AEO para un sistema de alimentación de pollos de engorde bajo condiciones experimentales de reto con oquistes atenuados de coccidia y sin reto, simulando las condiciones comerciales, donde se encuentran mayores densidades de población y una carga mayor microbiológica y de parásitos. Este estudio también se constituye en la primera evidencia experimental de niveles diferenciales de inclusión de AEO en condiciones menos higiénicas de producción (reto con coccidia) y en condiciones experimentales más "limpias".

El efecto del reto tuvo impacto negativo sobre el peso corporal a los 35 días de edad, cuando se sacrificaron los pollos de engorde. Con la inclusión de AEO se logró atenuar este efecto negativo sobre el peso corporal por la inoculación con ooquistes atenuados de coccidia. La evaluación de los diferentes niveles de inclusión de AEO y la interacción presentada entre la inclusión de AEO y el reto permitió establecer que se requiere niveles de inclusión de AEO más altos cuando hay un desafío con coccidia respecto a condiciones higiénicas favorables que se observa normalmente bajo condiciones experimentales (24). Los efectos negativos de la inoculación con ooquistes atenuados se observaron con mayor intensidad al final del ciclo de producción. Es posible que una proporción de ooquistes esporulados en el inóculo de vacuna viva hayan pasado a través del tracto digestivo y se haya reingerido posterior a la vacunación e infectado posteriormente al pollo de engorde como lo señala Williams (25). Adicionalmente, a los 21 días aún no se observaron efectos debido posiblemente a que de acuerdo con el ciclo de *Eimeria*, se esperan efectos negativos entre 4 y 7 días después de la inoculación.

Se han planteado dos posibles mecanismos por los cuales los AEO pueden ser útiles en presencia de parásitos: las propiedades inmunomodulatorias y su efecto antiparasitario (26). Giannenas et al (10) comprobaron un efecto anticoccidial de los AEO, al observar un menor número de: ooquistes, incidencia de lesiones, presencia de diarrea sanguinolenta y una mayor tasa de supervivencia de pollos de engorde retados con ooquistes infecciosos de *E. tenella* y suplementados con AEO, respecto al grupo control infectado sin suplementación con AEO. Sin embargo, en el mismo estudio, comprobaron que los AEO ejercen un efecto anticoccidial más bajo que el obtenido con el antibiótico ionoforo Lasalocid. En el presente estudio no se observó la presencia de diarrea sanguinolenta en ninguno de los tratamientos experimentales, posiblemente por la baja cantidad de ooquistes inoculados ( $9 \times 10^3$  ooquistes/mL), respecto al experimento de Giannenas et al (10) ( $5 \times 10^4$  ooquistes/mL). En el presente estudio se utilizaron ooquistes atenuados de *E. máxima* ( $6.3 \times 10^3$ ), *E. tenella* ( $1.5 \times 10^3$ ), *E. acevulina* ( $0.7 \times 10^3$ ), *E. necatrix* ( $0.7 \times 10^3$ ) en contraste, en el estudio reportado por Giannenas et al (10) se utilizaron ooquistes infecciosos de *E. tenella*. Adicionalmente, se reporta que las cepas atenuadas tienen un potencial reproductivo reducido, por lo tanto, no se esperan efectos patógenos severos como los obtenidos con cepas infecciosas de coccidia (21).

La conversión alimenticia también fue significativamente mejorada con la inclusión de 100 ppm de AEO en la dieta de los dos grupos experimentales, retados y no retados. Diferentes efectos funcionales se podrían asociar a una mejor eficiencia en la utilización del alimento, una mejor digestibilidad observada en previos experimentos de nuestro grupo y otros estudios (27) debido a la inclusión de AEO; como potenciador del sistema inmune (21), antiinflamatorio (28, 29) y analgésico mediados por un efecto inhibitorio de síntesis de prostaglandinas (30).

La eficiencia en el sistema de producción de carne de pollo, no solamente está determinada por la eficiencia en la utilización de alimento, es la conjugación de factores como la mortalidad, la morbilidad, el costo del alimento, la tasa de crecimiento y el rendimiento en canal, entre otros. El ingreso neto parcial mostró en parte una conjugación de todos estos parámetros y permite comparar el verdadero efecto de los tratamientos. En el presente estudio, se estimó que un nivel de 113 ppm de AEO permitiría maximizar el INP. Con niveles superiores a 200 ppm se observaron efectos negativos por un aumento del costo de la suplementación y reducción de la tasa de crecimiento, dejando ver un posible efecto tóxico bajo estos niveles de inclusión. Efectos negativos y tóxicos de los AEO ya han sido reportados en otros estudios: Dušan et al (31) encontraron una actividad citotóxica de los AEO sobre la línea de células de colon de humano, las Caco-2, utilizando dosis de 0.05% (alta) de un AEO rico en carvacrol (55%) encontraron que las células Caco-2 mostraron un incremento significativo en la mortalidad después de una hora (células necróticas 56.06%, apoptóticas 0.59%), comparadas con el control (células necróticas 7.15%, apoptóticas 0.02%,  $p < 0.001$ ). La actividad antibacteriana del carvacrol y el timol se basa en su efecto desestabilizante sobre la membrana celular (32), pero al mismo tiempo, este efecto podría conducir a problemas secundarios en el ave si no se dosifica adecuadamente. Al respecto en mamíferos, Magyar et al (33) demostraron en tejido cardíaco que el timol (100  $\mu$ M) tiene un efecto supresor sobre la corriente cardíaca de iones y puede conducir a arritmias; similares resultados encontró Zsentandrassy (34) quien evaluó el efecto del timol y sus análogos sobre las propiedades electrofisiológicas de células de miocardio y músculo esquelético humano, canino y de rata. El autor determinó un efecto supresor dependiente de la concentración, de todas las corrientes iónicas, debido a una baja cantidad de calcio activo causado por un bloqueo de la corriente de calcio. Zsentandrassy (34)

concluyó que el timol puede causar arritmias cardíacas en caso de un elevado consumo (100 µM o más en tejido). El presente estudio se hizo a 2640 msnm donde se presenta una mayor predisposición para la ascitis; adicionalmente, el aceite esencial de *Lippia origanoides*, es rico en timol (78%). Esto podría explicar que se encontró una mayor incidencia de mortalidad por ascitis en los grupos suplementados con 200 ppm. Este disturbio está relacionado con una falla cardíaca congestiva e hipertrofia ventricular derecha, efecto no reportado en previos estudios.

El presente estudio se constituye en el primer experimento sobre la evaluación de un AEO nativo de Colombia, rico en timol, el cual permitió determinar un nivel óptimo de inclusión en un sistema alimentación para pollos de engorde. Se comprobó que los aceites esenciales de *Lippia origanoides* procedentes del alto Patía, se constituyen en una alternativa económicamente viable para la producción de un aditivo nutracéutico para la industria de

la producción de carne de pollo. Con base en todos los experimentos realizados al interior del grupo de investigación con AEO y los reportes en la literatura, se podría recomendar que en la medida que se vehiculicen los AEO para una mayor solubilidad y se protejan (microencapsulados), los niveles de inclusión efectivos serán inferiores y menos nocivos. Además, el presente estudio es el primero en reportar niveles diferenciales de inclusión de AEO que optimizan el peso corporal de pollos de engorde para condiciones de un mayor desafío (ooquistes atenuados de coccidia) y condiciones experimentales más limpias.

### Agradecimientos

Corpoica, Universidad de La Salle, Ministerio de Agricultura, por el apoyo económico y logístico. Yesid Avellaneda, Ronnal Ortiz, Leonardo Sánchez, Stella Rodríguez, Javier Sánchez, Daniel Rodríguez, por su apoyo en el trabajo de campo.

### REFERENCIAS

- Williams P and R Losa. Blending essential oils for poultry. *Feed Mix* 2002; 10(3):8-9.
- Silva R, Vazquez N, T Dunford. Bioactive Components of Mexican Oregano Oil as Affected by Moisture and Plant maturity. *J Essent Oil Res* 2005; 17(6): 668-671.
- Baser KHC. The Turkish *Origanum* species. In: Spiridon E.K. *Oregano. The Genera Origanum and Lippia*. First ed. New York: Taylor & Francis Inc.; 2002.
- Jang IS, YH Ko, SY Kang, CY Lee. Effect of a commercial essential oil on growth performance, digestive enzyme activity and intestinal microflora population in broiler chickens. *Anim Feed Sci and Tech* 2007; 134(3):304-315.
- Ninkov D, inventor. Pharmaceutical composition suitable for use against Histomoniasis. U S patent 5990, 178. 2005.
- Nitsas FA, inventor. Pharmaceutical composition containing herbal-based active ingredients; methods for preparing same and uses of same for medical and veterinary purposes. US Patent 6, 106, 838. 2000.
- Baricevic D and T Bartol. The biological/ pharmacological activity of the *Origanum* Genus. In: Spiridon E.K. *Oregano. The Genera Origanum and Lippia*. First ed. New York: Taylor & Francis Inc.; 2002.
- Albesiano S, Rangel-Ch J y Cadena A. La vegetación del cañón del río Chicamocha (Santander, Colombia). *Caldasia* 2003; 25(1):73-99.
- Botsoglou NA, P Florou-Paner, E Christaki, DJ Didry, NL Fletouris and AB Spais. Effect of dietary oregano essential oil on performance of chickens and on iron-induced lipid oxidation of breast, thigh and abdominal fat tissues. *Br Poult Sci* 2002; 43(2):223-230.
- Giannenas I, P Florou-Paneri, M Papazahariadou, E Christaki, NA Botsoglou and AB Spais. Effect of dietary supplementation with oregano essential oil on performance of broilers after experimental infection with *Eimeria tenella*. *Arch Anim Nutr* 2003; 57(2):99-106.
- Oviedo-Rondón EO, ME Hume, C Hernández, S Clemente-Hernández. Intestinal Microbial Ecology of Broilers Vaccinated and Challenged with Mixed *Eimeria* Species, and Supplemented with Essential Oil Blends. *Poult Sci* 2006; 85(5):854-860.

12. National Research Council. Nutrient Requirements of Poultry. 9th rev. ed. 1994. Washington DC: Natl Acad Press; 1994.
13. Martínez M, Pellicer E. Organización y Gestión de Proyectos y Obras. McGraw-Hil, España; 2007.
14. Marini PJ. Use of simulation programs to predict optimization points in the broiler cycle. En: Congreso Mundial de Avicultura: Río de Janeiro, Brasil; 1978.
15. SAS Institute Inc. SAS®. Statistic. Version 9.0. Cary, NC: SAS Inst Inc; 2002.
16. Dias JB, Rodrigues C, D'Eston Armand J and de Mattos Segre CA. Intrauterine growth curve for newborns of the city of São Paulo, Brazil Einstein 2008; 6(4):408-412.
17. Brock RS, Falcão MC and Leone C. Body mass index values for newborns according to gestational age. Nutr Hosp 2008; 23:487-492.
18. Bindya LA, Murthy HNN, Jayashankar MR and Govindaiah MG. Mathematical models for egg production in an Indian colored broiler dam line. Int J of Poult Sci 2010; 9:916-919.
19. Alhamad MN. Ecological and species diversity of arid Mediterranean grazing land vegetation. J Arid Environ 2006; 66:698-715.
20. Russo M, GC Galletti, P Bocchini, A Carnacini. Essential oil chemical composition of wild populations of Italian oregano spice (*Origanum vulgare* ssp. *hirtum* (Link) Ietswaart): A preliminary evaluation of their use in chemotaxonomy by cluster analysis. 1. Inflorescences. J Agric Food Chem 1998; 46:3741-3746.
21. Uribe-Hernández CJ. The essential oil of *Lippia graveolens* H.B. K. from Jalisco México. J Essent Oil Res 1992; 4:647-649.
22. Vernin G, C Lageot, E Gaydou, C Parkanyi. Analysis of the essential oil of *Lippia graveolens* HBK from El Salvador. Flavour Fragrance J 2001; 16:219-226.
23. Sangwan NS, AHA Farooqi, F Shabih and RS Sangwan. Regulation of essential oil production in plants. Plant Growth Regul 2001; 34:3-21.
24. Lee KW, H Everts, HJ Kappert, M Frehner, R Losa and AC Beynen. Effect of dietary essential oils on growth performance, digestive enzymes and lipid metabolism in female broiler chickens. Br Poult Sci 2003; 44(3):450-457.
25. Williams RB. Epidemiological aspects of use of live anticoccidial vaccines for chickens. Int J Parasitol 1998; 28(7):1089-1098.
26. Hernández F, J Madrid, V García, J Orengo and MD Megía. Influence of two plant extracts on broilers performance, digestibility, and digestive organ size. Poult Sci 2004; 83(2):169-174.
27. Anthony J-P, L Fyfe and H Smith. Plant active components – a resource antiparasitic agents?. Trends Parasitol 2005; 21(10):462-468.
28. Skold K, Twetman S, Hallgren A, Yucel-Lindberg T And Modeer T. Effect of a chlorhexidine/thymol-containing varnish on prostaglandin E2 levels in gingival crevicular fluid. Eur J Oral Sci 1998; 106(1):571-575.
29. Yucel-Lindberg T, Twetman S, Skold-Larsson K And Modeer T. Effect of an antibacterial dental varnish on the levels of prostanoids, leukotriene B4, and interleukin-1 beta in gingival crevicular fluid. Acta Odontol Scand 1999; 57(1):23-27.
30. Süleyman Aydın, Yusuf öztürk, Rana Beis and K. Hüsnü. Investigation of *Origanum onites*, *Sidertis congesta* and *Satureja cuneifolia* Essential oils for analgesic activity. Phytotherapy Research 1996; 10:342-344.
31. Dušan F, Sabol M, D Katarína, B Dobroslava. Essential oils—their antimicrobial activity against *Escherichia coli* and effect on intestinal cell viability. Toxicol In Vitro 2006; 20(8):1435-1445.
32. Ultee A, MHJ Bennik and R Moezelaar. The Phenolic Hydroxyl Group of Carvacrol Is Essential for Action against the Food-Borne Pathogen *Bacillus cereus*. Appl and Environ Microb 2002; 68(4):1561-1568.
33. Magyar J, N Szentandrassy, T Bányász, L Fulöp, A Varró, PP Násási. Effects of thymol on calcium and potassium currents in canine and human ventricular cardiomyocytes. Br J Pharmacol 2002; 136(3):330-338.
34. Zsentandrassy N. Effects of thymol on cardiac and skeletal muscle. [PhD Thesis]. Debrecen: University of Debrecen, Medical and Health Science Center. Medical School. 2003.