

NIVELES DE POLIFENOLES Y FLAVONOIDES DE HOJAS DE MATICO, SOBRE PARÁMETROS FISIOLÓGICOS SANGUÍNEOS DE POLLOS PARRILLEROS¹

Levels of polyphenols and flavonoids from matico leaves on blood physiological parameters in broiler chickens.

Manuel Jean Paul Diaz Gonzales² , Daniel Marco Paredes López³ , Rizal Alcides Robles Huaynate⁴ ,
Cindy Vanessa Alania Santiago⁵ 

1: Extracto de tesis para la obtención del grado de Maestro en Ciencias Pecuarias mención Producción Animal Sostenible

2: Ingeniero Zootecnista (egresado Escuela de Posgrado), ORCID: 0009-0000-9762-2356, Universidad Nacional Agraria de la Selva, Tingo María - Perú, correo: manuel.diaz@unas.edu.pe., teléfono: 962 696 977

3: Docente Principal de la Facultad de Zootecnia, ORCID: 0000-0002-0266-7138, Universidad Nacional Agraria de la Selva, Tingo María – Perú, correo: daniel.paredes@unas.edu.pe., teléfono: 999 563 459

4: Docente Principal de la Facultad de Zootecnia, ORCID: 0000-0001-8013-2481, Universidad Nacional Agraria de la Selva, Tingo María – Perú, correo: rizal.robles@unas.edu.pe., teléfono: 920 626 587

5: Bachiller en Ciencias Pecuarias (egresado Escuela de Posgrado), ORCID: 0000-0001-9266-8304, Universidad Nacional Agraria de la Selva, Tingo María – Perú, correo: cindy.alania@unas.edu.pe., teléfono: 931 944 190

RESUMEN

El objetivo de la presente investigación fue determinar el efecto de los niveles de polifenoles y flavonoides de hojas de *P. aduncum* L. (Matico) sobre los parámetros fisiológicos sanguíneos de pollos parrilleros (*Gallus domesticus*). El desarrollo del ensayo se realizó en el Laboratorio de Sistema de Producción Ganadera Granja Zootecnia y Laboratorio de Sanidad Animal, pertenecientes a la Facultad de Zootecnia de la Universidad Nacional Agraria de la Selva (UNAS), utilizándose 102 pollos machos de la línea Cobb 500. Se evaluaron parámetros hematológicos como: hematocrito, hemoglobina, glóbulos rojos, índices eritrocitarios, glóbulos blancos, heterófilos, linfocitos, monocitos, eosinófilos y basófilos. Los resultados demuestran que, los parámetros hematológicos de pollos de engorde machos Cobb 500 de 1 a 21 días de edad no presentó diferencias significativas sobre los tratamientos controles (control negativo y control positivo) mediante la suplementación de 17,5 y 35 ppm de polifenoles y flavonoides de hojas de *P. aduncum* en el agua de bebida. Se concluye que los parámetros hematológicos de pollos de engorde machos Cobb 500 de 1 a 21 días de edad no se alteran por la suplementación de 17,5 y 35 ppm de polifenoles y flavonoides de hojas de *P. aduncum* en el agua de bebida.

Palabras claves: fitoquímicos, *Piper aduncum* L., Cobb 500, hematología.

ABSTRACT

The objective of this research was to determine the effect of polyphenol and flavonoid levels of *P. aduncum* L. (Matico) leaves on blood physiological parameters of broiler chickens (*Gallus domesticus*). The trial was conducted at the Livestock Production System Laboratory of the Zootechnical Farm and Animal Health Laboratory, belonging to the Faculty of Zootechnics of the Universidad Nacional Agraria de la Selva (UNAS), using 102 male broilers of the Cobb 500 line. Hematological parameters such as hematocrit, hemoglobin, red blood cells, erythrocyte indices, white blood cells, heterophils, lymphocytes, monocytes, eosinophils and basophils were evaluated. The results show that the hematological parameters of male Cobb 500 broilers from 1 to 21 days of age did not show significant differences over the control treatments (negative control and positive control) by supplementation of 17.5 and 35 ppm of polyphenols and flavonoids from *P. aduncum* leaves in the drinking water. It is concluded that hematological parameters of male Cobb 500 broilers from 1 to 21 days of age are not altered by the supplementation of 17.5 and 35 ppm of polyphenols and flavonoids from *P. aduncum* leaves in the drinking water.

Keywords: phytochemicals, *Piper aduncum* L., Cobb 500, hematology.

I. INTRODUCCIÓN

Los residuos de antibióticos en los piensos de origen animal suponen un riesgo directo para la salud de los consumidores por sus propiedades cancerígenas y potencialmente alergénicas; también suponen un riesgo para el proceso de producción y la rentabilidad en la industria animal. En este contexto, la resistencia de determinados microorganismos a los agentes antimicrobianos, la demanda generalizada de medicamentos veterinarios, el deterioro del medio ambiente y el deterioro del bienestar y la salud provocados por el uso continuo e indiscriminado de antibióticos en la cría de animales, se exigen en este contexto el suministro de alimentos y productos farmacéuticos seguros, para así garantizar la salud de los animales y, por tanto, de la salud pública (Mgbeahuruike et al., 2017).

En la Amazonía peruana se han registrado varias plantas con propiedades antibacterianas conocidas desde la antigüedad; por ello, cada vez está más extendido el conocimiento de sus diversos beneficios tanto como promotores del crecimiento como para el tratamiento de enfermedades. Entre estas plantas se encuentra *Piper aduncum* L. (Matico), su composición fitoquímica entre polifenoles y flavonoides ha sido utilizada en humanos porque se ha demostrado científicamente que contiene varias sustancias con efectos dinámicos sobre los organismos patógenos. Los polifenoles y flavonoides son compuestos fenólicos presentes ampliamente en la naturaleza los cuales son responsables del buen funcionamiento de las plantas y sus beneficios para la salud humana, los cuales han sido bien reconocidos en varios estudios (Oyemitan, 2017).

En este contexto, planteamos la siguiente pregunta de investigación: ¿Cómo afectan los niveles de polifenoles y flavonoides de las hojas de *P. aduncum* L. (Matico) a los parámetros fisiológicos sanguíneos de pollos parrilleros? Esta interrogante ha conducido a la formulación de la siguiente hipótesis de investigación: La suplementación de diferentes niveles de polifenoles y flavonoides de hojas de *Piper aduncum* L. (Matico) modificarán los parámetros fisiológicos sanguíneos de pollos parrilleros, debido a que su efecto antimicrobiano inhibitorio de bacterias mejora su salud (Soto, 2015). El objetivo fue determinar el efecto de los niveles de polifenoles y flavonoides de hojas de *P. aduncum* L. (Matico) sobre los parámetros fisiológicos sanguíneos de pollos parrilleros.

II. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Lugar de ejecución

El desarrollo de la presente investigación se llevó a cabo en dos laboratorios específicos: el Laboratorio del Sistema de Producción Ganadera Granja Zootecnia y el Laboratorio de Sanidad Animal, ambos pertenecientes a la Facultad de Zootecnia de la

Universidad Nacional Agraria de la Selva. El periodo de ejecución del experimento abarcó desde el 29 de octubre hasta el 04 de diciembre de 2022.

2.2. Materiales y equipos

En el interior del galpón, se dispusieron 33 jaulas metálicas, cada una con dimensiones de 60 cm de ancho, 1 m de largo y una altura de 80 cm desde el nivel del piso. Cada jaula estaba equipada con un foco de 100 watts, un comedero tipo tolva, un bebedero y una capa de viruta de madera con una altura de 10 cm como cama. Los equipos utilizados en el experimento incluyeron una balanza de 500 gramos con sensibilidad de 0,1 gramo y un termohigrómetro, empleado para medir las temperaturas y humedades mínimas y máximas, respectivamente. Entre los materiales utilizados se encuentran una escoba, un recogedor, un tacho para reciclar residuos, costales, bolsas de plástico, baldes, detergente, lejía y cal. En cuanto a los insumos objeto de estudio, los niveles de *Piper aduncum* L. (Matico) como polifenoles y flavonoides que fueron sometidos al experimento in vivo se obtuvieron en la etapa in vitro. Estos insumos se obtuvieron en forma de solución a una concentración de 10 mg/mL y provenientes del Laboratorio de Farmacognosia de la Universidad Nacional de Trujillo.

2.2.1. Insumo en estudio

Las hojas de *P. aduncum* fueron recolectadas en el Distrito de Luyando (caserío Huáscar) Provincia de Leoncio Prado, Departamento de Huánuco. Los arbustos, que tenían una edad de 6 años, fueron sometidos a la toma de muestras de hojas en horas de la mañana. Se seleccionaron hojas en un estado intermedio de madurez, evitando aquellas que eran demasiado jóvenes o excesivamente maduras, en seguida fueron limpiadas cuidadosamente con agua destilada y luego secadas en estufa a 40 °C por 72 horas; luego se procedió a moler con un molino de cuchillas y con un tamiz con diámetro de 1 mm de diámetro; posteriormente se realizó el proceso de obtención del extracto de matico por el método de extracción etanólico (González, 2004) y en seguida el fraccionamiento en polifenoles por el método colorimétrico de Singleton & Rossi (1965) y flavonoides de acuerdo al método de Kumazawa et al., (2004).

2.2.1.1. Extracción de metabolitos

Se pesó con precisión 50 g de la muestra de ensayo previamente pulverizada y tamizada, luego se colocaron sobre papel de filtro para formar un cartucho de filtro que se alimenta al extractor Soxhlet. Posteriormente, se colocó en un matraz Erlenmeyer y se agregó 150 mL de diclorometano para extraer los metabolitos solubles en diclorometano. A continuación, el cartucho (residuo) se colocó en una estufa a una temperatura inferior a 40 °C y se introdujo nuevamente en el Soxhlet para llevar a cabo la segunda extracción. En este paso, se añadieron 150 mL de

etanol a 70° G.L en un balón Erlenmeyer, con un volumen equivalente a tres veces el peso del residuo. Posteriormente, el cartucho (residuo) se mantuvo en la estufa a una temperatura inferior a 40 °C; para luego repetirse el proceso con la tercera extracción, el cartucho se introdujo nuevamente en el Soxhlet y a su vez, colocando 150 mL de agua destilada en un balón Erlenmeyer, con un volumen equivalente a tres veces el peso del residuo (González, 2004). El extracto obtenido se trasladó a un frasco ámbar para su almacenamiento y fue sometido a un examen fitoquímico preliminar con el objetivo de identificar la presencia de sus componentes. Es importante destacar que todo el proceso se llevó a cabo en el Laboratorio de la Universidad Nacional de Trujillo.

2.3. Animales experimentales

Se utilizaron 102 pollos machos de la línea Cobb 500, de un día de edad con un peso promedio de 45 ± 5 g, procedentes de la ciudad de Lima. Los pollos fueron distribuidos en seis tratamientos, los tratamientos (T₁, T₂ y T₅) con cinco repeticiones y los tratamientos (T₃, T₄ y T₆) con seis repeticiones y cada repetición con doce pollos, estas aves recibieron iguales condiciones de manejo y alimentación. Mientras que, para brindarles el agua de bebida, los niveles de los componentes se suministraron de acuerdo con la cantidad de aves por cada tratamiento y fueron evaluados en los siguientes días: 1 (control), 7 (inicio), 14 y 21 (crecimiento), y 28 (acabado).

2.4. Dietas experimentales y alimentación

La formulación de la ración se llevó a cabo utilizando el programa Mixit-2 y se basó en las tablas de Rostagno et al. (2017). Durante la ejecución del ensayo, se garantizó que los pollos recibieran condiciones de manejo, alimentación y acceso al agua de manera uniforme y equitativa, con excepción para las aves del T₂ quienes consumieron una ración suplementada con antibiótico promotor de crecimiento a una dosis de 0,05% de BMD al 10% hasta los 28 días de edad; entretanto, las aves de los tratamientos (T₁, T₃, T₄, T₅ y T₆) fue la misma ración de tratamiento T₂, pero sin el antibiótico promotor de crecimiento.

Las aves de los tratamientos T₁ y T₂ consumieron agua clorada; entretanto, las aves de los tratamientos T₃ y T₄ consumieron agua clorada y suplementada con 17,5 y 35 ppm de polifenoles, respectivamente y las aves de los tratamientos T₅ y T₆ consumieron agua clorada y suplementada con 17,5 y 35 ppm de flavonoides. Las dosis de los polifenoles y flavonoides fueron proporcionalmente al consumo diario de alimento de los pollos, los cuales se ofrecieron de 1 hasta 21 días de edad.

2.5. Tratamientos definidos

Este experimento considera 6 tratamientos:

Tabla 1

Tratamientos definidos a diferentes dosis de polifenoles y flavonoides de matico.

Tratamientos	Descripción
Control Negativo (T ₁)	Dieta base sin antibiótico y sin niveles de polifenoles y flavonoides
Control Positivo (T ₂)	Dieta base + 0,05% de BMD 10% y sin niveles de polifenoles y flavonoides
Polifenoles 17,5 ppm (T ₃)	Dieta base sin antibiótico + 17,5 ppm de polifenoles de hojas de matico diluido en agua de bebida
Polifenoles 35 ppm (T ₄)	Dieta base sin antibiótico + 35 ppm de polifenoles de hojas de matico diluido en agua de bebida
Flavonoides 17,5 ppm (T ₅)	Dieta base sin antibiótico + 17,5 ppm de flavonoides de hojas de matico diluido en agua de bebida
Flavonoides 35 ppm (T ₆)	Dieta base sin antibiótico + 35 ppm de flavonoides de hojas de matico diluido en agua de bebida

T: Tratamientos, BMD: Disalicilato metileno de bacitracina

2.6. Procedimientos

Los días 1 (control), 7 (inicio), 14 y 21 (crecimiento) de edad de los pollos se tomaron muestras de sangre por el método de punción de la vena yugular y/o alar; se emplearon tubos con anticoagulante para su respectiva obtención. Las muestras fueron analizadas de un pollo por cada repetición, los cuales se utilizaron para las determinaciones hematológicas del presente estudio. Cabe mencionar que el día 1 se tomaron muestras de tres pollos, el cual nos sirvió como muestra base antes de iniciar el ensayo. Posteriormente, para el ensayo propiamente dicho se emplearon un total de 33 pollos por cada edad y 99 pollos por todo el experimento.

2.6.1. Análisis hematológicos

Las muestras con EDTA fueron analizadas en un plazo máximo de 5 horas después de su extracción. Durante este tiempo, las muestras se mantuvieron debidamente refrigeradas a 4°C en el laboratorio de Sanidad Animal. En este laboratorio, se llevaron a cabo las determinaciones de los valores hematológicos, que incluyen variables como la concentración de hemoglobina (g/dL) y el recuento de glóbulos rojos ($\times 10^6/\text{mm}^3$), entre otras variables.

2.6.1.1. Hematocrito (%)

El hematocrito se determinó mediante el método del microhematocrito, que consistió en llenar un capilar liso (1,0 mm x 75 mm) con sangre que contiene anticoagulante aproximadamente tres cuartas partes de su capacidad e inclinándolo para facilitar el llenado. Luego se transfirió a una centrifuga de microhematocrito controlada digitalmente de la marca Hettich EBA20 modelo DTN-450. Se centrifugó a 10000 rpm durante 5 minutos y se realizó la lectura en

la microescala graduada de 0 a 100 (Muñoz, 2000).

2.6.1.2. Hemoglobina (g/dL)

La hemoglobina se determinó mediante el método del cianometahemoglobina y se utilizó el reactivo de Drabkin. Se inició utilizando un blanco de solución para poner a cero la escala de densidad óptica. Luego se usó una micropipeta para obtener 20 µl de sangre entera con anticoagulante y 5 ml de Drabkin para mezclarlos en un tubo. Después se dejó reposar por 10 minutos y se leyó en un espectrofotómetro UV "DiaLab" modelo DTN-450 a una longitud de onda de 546 nm con un factor de 36,3 (Muñoz, 2000).

2.6.1.3. Glóbulos Rojos (10⁶/mm³)

Se empleó una pipeta Thomas RBC, con la cual se pipeteó la sangre hasta la marca 0,5 y diluyó con diluyente RBC (diluyente de Gower) hasta la marca 101, lo que da como resultado una dilución 1:200. Luego se desechó 4 gotas de la pipeta antes de llenar la cámara de Neubauer. Se dejó reposar por un minuto para permitir que los glóbulos rojos se asienten y se observó los glóbulos rojos con un objetivo de 40x para después multiplicar el resultado por 10000 y así obtener el número total de glóbulos rojos por mm³ de sangre (Muñoz, 2000).

2.6.1.4. Volumen corpuscular medio (fL)

Se calculó mediante la siguiente fórmula:

$$\text{MCV} = \frac{\text{Hematocrito (\%)} / \text{Glóbulos rojos (10}^6/\text{mm}^3)}{\text{x 10}} \quad (1)$$

2.6.1.5. Hemoglobina corpuscular media (pg)

Se determinó mediante la siguiente fórmula:

$$\text{MCH} = \frac{\text{Hemoglobina (g/dL)} / \text{Glóbulos rojos (10}^6/\text{mm}^3)}{\text{x 10}} \quad (2)$$

2.6.1.6. Concentración de hemoglobina corpuscular media (g/dL)

Se determinó mediante la siguiente fórmula:

$$\text{MCHC} = \frac{\text{Hemoglobina (g/dL)} / \text{Hematocrito (\%)}}{\text{x 100}} \quad (3)$$

2.6.1.7. Glóbulos Blancos (10³/mm³)

Se aspiró la sangre hasta la marca 0,5 utilizando una pipeta de leucocitos Thomas y diluyó hasta la marca 11 con diluyente de leucocitos (solución de Turk) hasta una dilución de 1:20. Luego se desechó de 3 a 4 gotas de la pipeta antes de llenar la cámara de Neubauer. Se dejó reposar durante dos minutos para permitir que los glóbulos blancos se asienten y se observó el recuento de glóbulos blancos con un objetivo de 10x, para luego multiplicarse el resultado por 50 y así obtener el recuento total de glóbulos blancos por mm³ de sangre (Muñoz, 2000).

2.6.1.8. Heterófilos, Linfocitos, Monocitos, Eosinófilos y Basófilos (%)

Se preparó frotis sanguíneos en portaobjetos, luego se añadió colorante de Wright y se dejó reposar por 5 minutos. Luego se añadió solución amortiguadora de fosfatos y se dejó reposando por 15 minutos hasta que aparezca una capa metálica verdosa. Posterior a esto, se lavó con un chorro de agua destilada de 5 a 30 segundos y se dejó secar al aire. Los glóbulos blancos se observaron con el objetivo de 100x, previa adición de una gota de aceite de inmersión en el portaobjetos; para clasificarlos de acuerdo con el tipo de célula y anotarlos con un contador manual (contómetro) hasta llegar a 100 células; y de esta forma se obtuvo la cantidad de heterófilos, linfocitos, monocitos, eosinófilos y basófilos en porcentaje (Muñoz, 2000).

2.7. Análisis estadístico

Para las variables hematológicas se evaluaron mediante un diseño completamente al azar con arreglo factorial 6 x 3 + 1 (6 raciones con diferentes suplementos) x 3 edades (7, 14 y 21 días) + 1 edad control (día 1). Se utilizó el software estadístico InfoStat (Di Rienzo et al., 2008) para el análisis de varianza y la prueba de Student Newman-Keuls (5%) para comparar medias.

III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Parámetros hematológicos

La prueba de comparación de medias para los parámetros hematológicos sanguíneos en pollos parrilleros nos muestra que, a nivel de dosis no existen diferencias significativas ($p > 0,05$) en todas las variables en estudio. Con respecto a la edad de los pollos, se evidencian diferencias significativas ($p < 0,05$) en todas las variables estudiadas. Cabe mencionar que la interacción de los factores (dosis x edad) mostraron de igual manera diferencias significativas ($p < 0,05$) en las variables: hematocrito, hemoglobina, glóbulos rojos, volumen corpuscular media, hemoglobina corpuscular media y linfocitos, esto corrobora la interacción entre las dosis y las edades de las aves de dichas variables hematológicas. Sin embargo, hay que mencionar que los eosinófilos con respecto a la edad mostraron una relación negativa, mientras que el resto de las variables mostraron una relación positiva (Tabla 2).

Borsa (2009) señala que la utilización de la hematología se presenta como una herramienta fundamental para el diagnóstico y la comprensión de los mecanismos de patogénesis de diversas enfermedades. Además, destaca que hay escasa literatura y pocos factores documentados que influyen en los perfiles hematológicos de las aves.

En los días 1, 7 y 21, los niveles de hematocrito bajo la suplementación por las diferentes dosis de polifenoles

y flavonoides no fueron alterados, con excepción del día 14, donde el hematocrito ($p < 0,05$) fue modificado por las dosis de polifenoles y flavonoides pero que no mostraron superioridad sobre el tratamiento control. Asimismo, los niveles de polifenoles y flavonoides en relación con las edades, el hematocrito incrementó significativamente ($p < 0,05$) a la edad de 21 días; por lo cual, se corrobora que hay una relación positiva de acuerdo con la edad y sus diferentes dosis para las variables en estudio (Tabla 3).

Tabla 2
Niveles de hematocrito bajo la interacción de diferentes dosis de polifenoles y flavonoides de matico y la edad de pollos parrilleros.

Variable		Hematocrito (%)			
Dosis / Edad		1 (días)	7 (días)	14 (días)	21 (días)
Control Negativo		29,00 a B	20,40 a C	31,75 a AB	35,20 a A
Control Positivo		29,00 a B	25,20 a C	21,40 c D	34,60 a A
Polifenoles ppm	17,5	29,00 a AB	24,00 a B	23,50 bc B	32,50 a A
Polifenoles 35 ppm		29,00 a AB	24,17 a B	25,80 bc B	33,67 a A
Flavonoides ppm	17,5	29,00 a AB	23,60 a B	24,60 bc B	31,40 a A
Flavonoides 35 ppm		29,00 a B	23,50 a C	28,67 ab B	34,83 a A

Promedios con letras minúsculas diferentes en fila (dosis), muestran significancia SNK ($p < 0,05$)

Promedios con letras mayúsculas diferentes en columna (edades), muestran significancia SNK ($p < 0,05$)

Agustí (2015) quien señala que valores por debajo del 20% de hematocrito pueden sugerir la presencia de anemia, aunque es crucial evaluar adicionalmente la morfología y los índices de los eritrocitos. Es importante tener en cuenta que otros factores como la deshidratación, pérdida del volumen plasmático, eritrocitosis y eritropoyetina también pueden influir en los niveles de hematocrito.

En los días 1, 7 y 21, los niveles de hemoglobina bajo la adición por las diferentes dosis de polifenoles y flavonoides no fueron alterados, con excepción del día 14, donde la hemoglobina ($p < 0,05$) fue modificado por las dosis de polifenoles y flavonoides pero que no superaron sobre el tratamiento control, observándose menor cantidad de hemoglobina en las aves que consumieron raciones control positivo (con APC), medianamente aquellas que consumieron agua de bebida con 17,5 y 35 ppm de polifenoles y 17,5 y 35 ppm de flavonoides; entretanto, las aves que consumieron raciones control negativo (sin APC) manifestaron cantidades superiores de hemoglobina. A su vez, los niveles de polifenoles y flavonoides en relación con las edades, la hemoglobina incrementó significativamente ($p < 0,05$) a la edad de 21 días; el cual, nos manifiesta que hay una relación positiva de acuerdo con la edad y sus diferentes dosis (Tabla 4).

Tabla 3
Niveles de hemoglobina bajo la interacción de diferentes dosis de polifenoles y flavonoides de matico y la edad de pollos parrilleros.

Variable		Hemoglobina (g/dL)			
Dosis / Edad		1 (días)	7 (días)	14 (días)	21(días)
Control Negativo		9,60 a B	6,78 a C	10,58 a AB	11,66 a A
Control Positivo		9,60 a B	8,38 a C	7,08 c D	11,44 a A
Polifenoles ppm	17,5	9,60 a AB	7,94 a B	7,88 bc B	10,73 a A
Polifenoles 35 ppm		9,60 a AB	8,03 a B	8,56 bc B	11,13 a A
Flavonoides ppm	17,5	9,60 a AB	7,82 a B	8,16 bc B	10,38 a A
Flavonoides 35 ppm		9,60 a B	7,82 a C	9,52 ab B	11,53 a A

Promedios con letras minúsculas diferentes en fila (dosis), muestran significancia SNK ($p < 0,05$)

Promedios con letras mayúsculas diferentes en columna (edades), muestran significancia SNK ($p < 0,05$).

Gutiérrez & Corredor (2017) nos menciona que al extraer sangre de los vasos braquiales se suele aumentar el estado de estrés del ave, debido al incremento de cortisol plasmático provocando la movilización de los eritrocitos, por lo que se puede presentar un ligero aumento en la hemoglobina.

En los días 1, 7 y 21, los niveles de glóbulos rojos bajo la suplementación por las diferentes dosis de polifenoles y flavonoides no fueron afectados, con excepción del día 14, donde los glóbulos rojos ($p < 0,05$) fue modificado por las dosis de polifenoles y flavonoides pero que no mostraron superioridad sobre el tratamiento control, observándose menor producción de glóbulos rojos en las aves que consumieron raciones control positivo (con APC), medianamente los que se suplementaron con 17,5 y 35 ppm de polifenoles y flavonoides; entretanto, las que consumieron raciones control negativo (sin APC) incrementaron las cantidades de glóbulos rojos. Sin embargo, los niveles de polifenoles y flavonoides con respecto a las edades, los glóbulos rojos incrementaron significativamente ($p < 0,05$) a la edad de 21 días; con lo cual, se corrobora que hay una relación positiva de acuerdo con la edad y sus diferentes dosis (Tabla 5).

Tabla 4

Niveles de glóbulos rojos bajo la interacción de diferentes dosis de polifenoles y flavonoides de matico y la edad de pollos parrilleros.

Variable	Glóbulos Rojos ($10^6/\text{mm}^3$)			
	1	7	14	21
Dosis / Edad				
Control Negativo	3,30 a B	2,44 a C	3,55 a AB	3,92 a A
Control Positivo	3,30 a B	2,92 a C	2,54 c D	3,86 a A
Polifenoles 17,5 ppm	3,30 a AB	2,80 a B	2,75 bc B	3,65 a A
Polifenoles 35 ppm	3,30 a AB	2,82 a B	2,98 bc B	3,77 a A
Flavonoides 17,5 ppm	3,30 a AB	2,76 a B	2,86 bc B	3,54 a A
Flavonoides 35 ppm	3,30 a B	2,75 a C	3,27 ab B	3,88 a A

Promedios con letras minúsculas diferentes en fila (dosis), muestran significancia SNK ($p < 0,05$)

Promedios con letras mayúsculas diferentes en columna (edades), muestran significancia SNK ($p < 0,05$)

Tabla 5

Perfiles hematológicos de pollos parrilleros suplementados con diferentes dosis de polifenoles y flavonoides de matico con respecto a su edad.

Variables	HTO	HB	G. RO	MCV	MCH	MCH C	G. BL	HETE	LINF	EOS	MON	BAS
Dosis	(%)	(g/dL)	($10^6/\text{mm}^3$)	(fL)	(pg)	(g/dL)	($10^3/\text{mm}^3$)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)
Control Negativo	29,09	9,65	3,30	87,26	28,96	33,19	12,03	34,59	58,01	4,01	1,50	0,05
Control Positivo	27,55	9,13	3,16	86,96	28,80	33,12	10,89	34,28	59,88	3,94	1,40	0,20
Polifenoles 17,5 ppm	27,25	9,04	3,13	86,87	28,84	33,21	11,96	34,09	56,83	5,17	1,58	0,33
Polifenoles 35 ppm	28,16	9,33	3,22	87,30	28,93	33,15	11,94	33,08	60,41	4,60	1,63	0,18
Flavonoides 17,5 ppm	27,15	8,99	3,12	86,91	28,78	33,12	12,54	31,93	61,98	4,31	1,30	0,05
Flavonoides 35 ppm	29,00	9,62	3,30	87,61	29,06	33,17	10,98	34,58	58,83	3,93	1,71	0,08
Edad												
1	29,00 b	9,60 b	3,30 b	87,78 b	29,06 b	33,11 a	13,50 a	18,50 b	74,50 a	6,00 a	1,00 b	0,00 b
7	23,48 d	7,80 d	2,75 d	85,27 d	28,31 d	33,20 a	11,10 b	76,19 a	18,72 c	2,91 c	1,76 a	0,00 b
14	25,95 c	8,63 c	2,99 c	86,23 c	28,68 c	33,26 a	9,30 c	20,79 b	70,16 b	4,79 b	1,84 a	0,39 a
21	33,70 a	11,15 a	3,77 a	89,32 a	29,55 a	33,08 a	12,99 a	19,56 b	73,91 a	4,67 b	1,48 a	0,21 ab
P - Valores												
Dosis	0,3202	0,2832	0,3413	0,7429	0,6162	0,8855	0,2785	0,5853	0,0923	0,6125	0,5750	0,3420
Edad	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,0234	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,0016	0,0012
D X E	0,0016	0,0011	0,0021	0,0211	0,0077	0,3051	0,5249	0,3077	<0,0001	0,2052	0,2078	0,1247
CV (%)	10,94	10,78	9,59	1,77	1,70	0,75	19,59	12,82	8,93	23,18	41,18	220,13

Promedios con letras diferentes son significativamente diferentes ($p < 0,05$), CV: Coeficiente de variación, D X E: Interacción de factores (dosis x edad de los pollos)

HTO: Hematocrito, HB: Hemoglobina, G. RO: Glóbulos rojos, MCV: Volumen corpuscular medio, MCH: Hemoglobina corpuscular media, MCHC: Concentración de hemoglobina corpuscular media, G. BL: Glóbulos blancos, HETE: Heterófilos, LINF: Linfocitos, EOS: Eosinófilos transformados por $\sqrt{x} + 1$, MON: Monocitos, BAS: Basófilos

La concentración sanguínea de los parámetros de hematología utilizados es regulada por el balance entre el aporte de nutrientes por la dieta y su excreción por orina, heces, pérdidas cutáneas, etc. En general, una concentración sanguínea menor a la normal sugiere que el aporte del precursor en la dieta es inadecuado, y una concentración mayor sugiere que el aporte en la dieta es generoso y puede ser reducido con beneficio económico (Oblitas, 2008). El recuento de células sanguíneas resulta ser de gran ayuda cuando se analiza adecuadamente y se interpretan eficientemente los datos, y es un complemento valioso que contribuye al diagnóstico, el pronóstico y la evolución de enfermedades de tipo infeccioso que pueden llegar a afectar un sistema productivo (Gutiérrez & Corredor, 2017).

Morales (2009), los glóbulos rojos, también conocidos como eritrocitos o hematíes, en aves tienen una vida media relativamente más corta en comparación con los mamíferos, con una duración de 20 a 30 días. Además, se destaca que estos eritrocitos aviares son más grandes que los de los mamíferos, midiendo entre 6 a 10,9 µm.

En los días 1, 7 y 21, el volumen corpuscular medio bajo la adición por las diferentes dosis de polifenoles y flavonoides no fueron afectados, con excepción del día 14, donde el volumen corpuscular medio ($p < 0,05$) fue influenciado por las dosis de polifenoles y flavonoides pero que no superaron sobre el tratamiento control, observándose menor cantidad de volumen corpuscular medio en las aves que consumieron raciones control positivo (con APC), medianamente los que se suplementaron con 17,5 y 35 ppm de polifenoles y flavonoides; entretanto, las que consumieron raciones control negativo (sin APC) presentaron cantidades superiores de volumen corpuscular medio. Por otro lado, los niveles de polifenoles y flavonoides con relación a las edades, el volumen corpuscular medio incrementó significativamente ($p < 0,05$) a la edad de 21 días; por lo tanto, se evidencia que hay una relación positiva de acuerdo con la edad y sus diferentes dosis para las variables en estudio (Tabla 6).

Tabla 6
Niveles de volumen corpuscular medio bajo la interacción de diferentes dosis de polifenoles y flavonoides de matico y la edad de pollos parrilleros.

Variable	Volumen Corpuscular Medio (fL)				
	Dosis / Edad	1 (días)	7 (días)	14 (días)	21 (días)
Control Negativo		87,78 a A	83,45 a B	88,04 a A	89,76 a A
Control Positivo		87,78 a B	86,24 a C	84,22 b D	89,60 a A
Polifenoles 17,5 ppm		87,78 a AB	85,54 a B	85,18 ab B	88,99 a A
Polifenoles 35 ppm		87,78 a AB	85,70 a B	86,37 ab B	89,34 a A

Variable	Volumen Corpuscular Medio (fL)				
	Dosis / Edad	1 (días)	7 (días)	14 (días)	21 (días)
Flavonoides 17,5 ppm		87,78 a AB	85,35 a B	85,92 ab AB	88,57 a A
Flavonoides 35 ppm		87,78 a A	85,36 a B	87,64 ab A	89,65 a A

Promedios con letras minúsculas diferentes en fila (dosis), muestran significancia SNK ($p < 0,05$)

Promedios con letras mayúsculas diferentes en columna (edades), muestran significancia SNK ($p < 0,05$)

El Volumen Corpuscular Medio (MCV) proporciona información sobre el tamaño promedio de los glóbulos rojos y se expresa en fentolitros (fL). Esta medida clasifica los glóbulos rojos en normocitosis (tamaño normal), microcitosis (pequeños) y macrocitosis (grandes). Esta clasificación es fundamental para la evaluación de diferentes tipos de anemias (Copete-Sierra, 2013).

En los días 1, 7 y 21, la hemoglobina corpuscular media bajo la suplementación por las diferentes dosis de polifenoles y flavonoides no fueron modificadas, con excepción del día 14, donde la hemoglobina corpuscular media ($p < 0,05$) fue influenciada por las dosis de polifenoles y flavonoides pero que no evidenciaron superioridad sobre el tratamiento control, observándose menor cantidad de hemoglobina corpuscular media en las aves que consumieron raciones control positivo (con APC), medianamente los que se suplementaron con 17,5 y 35 ppm de polifenoles y 17,5 ppm de flavonoides; entretanto, las aves que consumieron raciones control negativo (sin APC) y 35 ppm de flavonoides manifestaron las cantidades elevadas de hemoglobina corpuscular media. Asimismo, los niveles de polifenoles y flavonoides en relación con las edades, la hemoglobina corpuscular media incrementó significativamente ($p < 0,05$) a la edad de 21 días; el cual, nos muestra que hay una relación positiva de acuerdo con la edad y sus diferentes dosis para las variables en estudio (Tabla 7).

Tabla 7
Niveles de hemoglobina corpuscular media bajo la interacción de diferentes dosis de polifenoles y flavonoides de matico y la edad de pollos parrilleros.

Variable	Hemoglobina Corpuscular Media (pg)				
	Dosis / Edad	1	7	14	21
Control Negativo		29,06 a A	27,73 a B	29,31 a A	29,74 a A
Control Positivo		29,06 a AB	28,68 a B	27,86 b C	29,62 a A
Polifenoles 17,5 ppm		29,06 a AB	28,30 a B	28,64 ab AB	29,39 a A
Polifenoles 35 ppm		29,06 a AB	28,48 a B	28,66 ab AB	29,54 a A
Flavonoides 17,5 ppm		29,06 a A	28,28 a A	28,50 ab A	29,29 a A
Flavonoides 35 ppm		29,06 a AB	28,39 a B	29,10 a AB	29,69 a A

Promedios con letras minúsculas diferentes en fila (dosis), muestran significancia SNK ($p < 0,05$)

Promedios con letras mayúsculas diferentes en columna (edades), muestran significancia SNK ($p < 0,05$)

La hemoglobina corpuscular media (MCH) se define como el valor promedio de la hemoglobina contenida en un glóbulo rojo y se expresa en picogramos (pg), según la descripción de Copete-Sierra (2013). Por su parte, Agustí (2015) añade que, en aves, el volumen corpuscular medio (MCV), la MCH y la concentración media de hemoglobina corpuscular (MCHC) exhiben una versatilidad interespecífica, presentando valores más bajos que los observados en mamíferos, debido a la presencia del núcleo en los eritrocitos aviares.

También, Scalbert & Williamson (2000) mencionan que la absorción intestinal de diferentes polifenoles y la naturaleza de los metabolitos circulantes en la sangre se clasifican según sus formas químicas. Algunos estudios atribuyeron que la absorción de los polifenoles a través de la barrera intestinal es al elevado efecto antioxidante tras su consumo en la dieta. A tal causa, los parámetros como hematocrito, hemoglobina, glóbulos rojos, hemoglobina corpuscular media y volumen corpuscular medio apoyaron a mantener su producción con respecto a su etapa de vida de los pollos de engorde.

Diversas investigaciones sobre los polifenoles han cuestionado sus efectos antioxidantes directos (Hu, 2011; Surai, 2014) debido a que las concentraciones relativamente altas de estos fitoquímicos (a menudo en el rango de 10-100 μM) para lograr su actividad antioxidante en estudios de cultivo celular, en comparación con su concentración plasmática media en sujetos sanos, que rara vez supera 1 μM . Además, las concentraciones fisiológicamente relevantes de los compuestos polifenólicos pueden limitar su efecto si se tienen en cuenta las concentraciones plasmáticas de otros antioxidantes, como la albúmina y el urato (varios cientos de cientos de μM), vitamina E (20-30 μM), vitamina C (26,1-84,6 μM), (Hu, 2011).

En los días 1, 7 y 21, los niveles de linfocitos bajo la suplementación de las diferentes dosis de polifenoles y flavonoides no fueron modificados, con excepción del día 14, donde las concentraciones de linfocitos ($p < 0,05$) fue influenciada por las dosis de polifenoles y flavonoides pero que se mantuvieron en igualdad con el tratamiento control. Sin embargo, los niveles de polifenoles y flavonoides en relación con las edades, los linfocitos se incrementaron significativamente ($p < 0,05$) a la edad de 14 y 21 días; por lo cual, se corrobora que hay una relación positiva de acuerdo con la edad y sus diferentes dosis (Tabla 8).

Tabla 8

Niveles de linfocitos bajo la interacción de

diferentes dosis de polifenoles y flavonoides de matico y la edad de pollos parrilleros

Variable	Linfocitos (%)			
Dosis / Edad	1 (días)	7 (días)	14 (días)	21 (días)
Control Negativo	74,50 a A	20,60 a C	59,33 b B	77,60 a A
Control Positivo	74,50 a A	17,80 a B	75,80 a A	71,40 a A
Polifenoles 17,5 ppm	74,50 a A	19,20 a C	60,60 b B	73,00 a A
Polifenoles 35 ppm	74,50 a A	18,83 a B	74,80 a A	73,50 a A
Flavonoides 17,5 ppm	74,50 a A	18,20 a B	76,60 a A	78,60 a A
Flavonoides 35 ppm	74,50 a A	17,67 a B	73,83 a A	69,33 a A

Promedios con letras minúsculas diferentes en fila (dosis), muestran significancia SNK ($p < 0,05$)

Promedios con letras mayúsculas diferentes en columna (edades), muestran significancia SNK ($p < 0,05$)

Los polifenoles dietéticos presentan una inmunoterapia prometedora debido a sus multifunciones biológicas. Investigaciones recientes han revelado que cada tipo de polifenol modula la función de las células inmunitarias al unirse a receptores celulares y alterar las vías de la célula, regulando así la respuesta inmunitaria del huésped (Sobhani et al., 2020).

En aves de corral, el sistema inmunitario se ven afectados significativamente por diversos cambios en la dieta como son las micotoxinas que resultan en la reducción de los linfocitos T y la regulación baja de la expresión del ARNm de las citocinas en el intestino delgado (Jiang et al., 2015). Asimismo, causan alteraciones patológicas en los órganos inmunitarios de los pollos de engorde debido al aumento de la apoptosis (Peng et al., 2015).

Los polifenoles protegen a las células de los radicales libres generados por los siguientes mecanismos: (a) inhibición de las actividades de enzimas prooxidantes como la xantina oxidasa, la proteína quinasa C y la β -nicotina-amida adenina dinucleótido asociada a la membrana (NADPH) oxidasa (Procházková et al., 2011), (b) activación de enzimas antioxidantes (Procházková et al., 2011), (c) eliminación directa de ROS participando como donante de electrones (Procházková et al., 2011), (d) quelación de metales de transición, restringiendo así la formación de radicales hidroxilo reactivos (HO) (Halliwell, 2008; Lipiński et al., 2017), (e) reducción de radicales α -tocoferol (Procházková et al., 2011; Surai, 2014), (f) alivio del estrés oxidativo por óxido nítrico ($\text{NO}\cdot$) (Surai, 2014), (g) y potenciación de las actividades antioxidantes de los antioxidantes de bajo peso molecular, como el ascorbato y los tocoferoles, al evitar su oxidación (Lipiński et al., 2017; Paszkiewicz et al., 2012).

IV. CONCLUSIONES

Los parámetros hematológicos de pollos de engorde

machos Cobb 500 de 1 a 21 días de edad no se alteran por la suplementación de 17,5 y 35 ppm de polifenoles y flavonoides de hojas de *P. aduncum* en el agua de bebida.

V. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Agustí, S. (2015). *Estudio de la hematología y la bioquímica sanguínea de las rapaces nocturnas Ibéricas* [Tesis doctoral, Universitat Autònoma de Barcelona]. Repositorio Institucional. <http://hdl.handle.net/10803/329287>
- Borsa. (2009). Valores hematológicos em frangos de corte de criação industrial. *Colloquium Agrariae*, 5(1), pp. 25-31. DOI: 10.5747/ca.2009.v05.n1.a042
- Copete-Sierra, M. (2013). Aspectos generales de la evaluación hematológica en fauna silvestre y no convencional. *Memorias de la conferencia interna en medicina y aprovechamiento de fauna silvestre, exótica y no convencional*, 9(1), pp. 17-55.
- Di Rienzo, J. A., Casanoves, F., Balzarini, M. G., Gonzalez, L., Tablada, M., & Robledo, C.W. (2008). *InfoStat, versión 2008, Grupo InfoStat, FCA*, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.
- Gonzalez, A. (2004). *Obtención de aceites esenciales y extractos etanólicos de plantas del Amazonas* [Tesis de grado, Universidad Nacional de Colombia]. Repositorio Institucional. <https://repositorio.unal.edu.co/handle/unal/2800>
- Gutiérrez-Castro, L., & Corredor, J. (2017). Parámetros sanguíneos y respuesta inmune en pollos de engorde alimentados con probióticos. *Revista Veterinaria y Zootecnia*, 11(2), p. 81-92. DOI: 10.17151/vetzo.2017.11.2.7.
- Halliwell, B. (2008). Are polyphenols antioxidants or pro-oxidants? What do we learn from cell culture and in vivo studies?. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 476(2), 107–112. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2008.01.028>.
- Hu, M. L. (2011). Dietary polyphenols as antioxidants and anticancer agents: More questions than answers. *Chang Gung Med J*, 34(5), 449–460. PMID: 22035889.
- Jiang, M., Peng, X., Fang, J., Cui, H., Yu, Z., & Chen, Z. (2015). Effects of aflatoxin B1 on T-cell subsets and mRNA expression of cytokines in the intestine of broilers. *International Journal of Molecular Sciences*, 16(4), 6945–6959. <https://doi.org/10.3390/ijms16046945>.
- Kumazawa, S., Hamasaka, T., & Nakayama, T. (2004). Antioxidant activity of propolis of various geographic origins. *Food Chemistry*, 84(3), 329-339. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(03\)00216-4](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(03)00216-4)
- Lipiński, K., Mazur, M., Antoszkiewicz, Z., & Purwin, C. (2017). Polyphenols in monogastric nutrition – A review. *Annals of Animal Science*, 17(1), 41–58. <https://doi.org/10.1515/aoas-2016-0042>.
- Mgbeahuruike, E., Yrjönen, T., Vuorela, H., & Holm, Y. (2017). Bioactive compounds from medicinal plants: Focus on *Piper* species. *South African Journal of Botany*, 112, 54–69. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2017.05.007>.
- Morales, M. (2009). Atlas de hemocitología veterinaria (2ª ed.). Editorial Servet
- Muñoz, K. & Montoya, E. (2001). Valores hemáticos del ronsoco (*Hydrochaeris hydrochaeris*) en cautiverio en la Amazonía peruana. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 12(1), 63-70. <https://doi.org/10.15381/rivep.v12i1.7426>
- Oblitas, F. (2008). *Perfiles metabólicos en el diagnóstico y prevención de trastornos metabólicos y nutricionales en vacas lecheras de la campiña de Cajamarca* [Tesis de doctorado, Universidad Nacional de Cajamarca]. Repositorio Institucional. <http://hdl.handle.net/20.500.14074/6336>
- Oyemitan, I. (2017). African Medicinal Spices of Genus *Piper*. En V. Kuete. (Ed). *Medicinal Spices and Vegetables from Africa: Therapeutic Potential Against Metabolic, Inflammatory, Infectious and Systemic Diseases* (pp. 581-597). Academic Press. <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-809286-6.00027-3>.
- Paszkiwicz, M., Budzyńska, A., Różalska, B., & Sadowska, B. (2012). Immunomodulacyjna rola polifenoli roślinnych. *Postępy Higieny I Medycyny Doświadczalnej*, 66(855199), 637–646. <https://doi.org/10.5604/17322693.1009908>.
- Peng, X., Bai, S., Ding, X., Zeng, Q., Zhang, K., & Fang, J. (2015). Pathological changes in the immune organs of broiler chickens fed on corn naturally contaminated with aflatoxins B1 and B2. *Avian Pathology*, 44(3), 192–199. doi: 10.1080/03079457.2015.1023179.
- Procházková, D., Boušová, I., & Wilhelmová, N. (2011). Antioxidant and prooxidant properties of flavonoids. *Fitoterapia*, 82(4), 513–523. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2011.01.018>.
- Rostagno, H., Teixeira, L., Hannas, M., Lopes, J., Kazue, N., Guilherme, F., Saravia, A., Teixeira, M., Borges, P., Oliveira, R., Toledo, S., Oliveira, C. (2017). *Tablas*

Brasileñas para aves y cerdos (4ª ed.).
Universidad Federal de Viçosa.
<https://eliasnutri.wordpress.com/wp-content/uploads/2018/09/tablas-brasilec3blas-aves-y-cerdos-cuarta-edicion-2017-11.pdf>

- Scalbert, A., & Williamson, G. (2000). Dietary intake and bioavailability of polyphenols. *The Journal of Nutrition*, *130*(8), 2073S–2085S. <https://doi.org/10.1093/jn/130.8.2073S>
- Singleton, V., & Rossi, J. (1965) Colorimetry of Total Phenolic Compounds with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, *16*(3), 144-158. DOI: 10.5344/ajev.1965.16.3.144
- Sobhani, M., Farzaei, M. H., Kiani, S., & Khodarahmi, R. (2020). Immunomodulatory; anti-inflammatory/antioxidant effects of polyphenols: a comparative review on the parental compounds and their metabolites. *Food Reviews International*, *37*(8), 1–53. <https://doi.org/10.1080/87559129.2020.1717523>.
- Soto, M. (2015). Estudio fitoquímico y cuantificación de flavonoides totales de las hojas de *Piper peltatum* L. y *Piper aduncum* L. procedentes de la región Amazonas. In *Crescendo*; *6*(1), 33-43. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=5127582>
- Surai, P. (2014). Polyphenol compounds in the chicken/animal diet: From the past to the future. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, *98*(1), 19–31. <https://doi.org/10.1111/jpn.12070>.