

UNIVERSIDAD PRIVADA ANTENOR ORREGO
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
ESCUELA PROFESIONAL DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA



**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:
MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**

**EXTRACCIÓN Y EVALUACIÓN DE LOS TANINOS DE TARA
(*Caesalpinia spinosa*) SOBRE LA INTEGRIDAD DE OOQUISTES DE
Eimeria sp. EN CONDICIONES *in vitro***

Área de Investigación:

Producción y Bienestar Animal

Autor:

Br. Gary Erick León Burgos

Jurado Evaluador:

Presidente: MV. Mg. Luis Abraham Ortiz Tenorio

Secretario: MV. Mg. Raquel Patricia Ramírez Reyes

Vocal: MV. Mg. Christian Ernesto Campos Huacanjulca

Asesora:

Mblgo. Mg. Mendoza Mendocilla, Roxana Marisol
Código ORCID <https://orcid.org/0000-0001-9398-3613>

Trujillo – Perú

2022

DEDICATORIA

*A la vida, por todo el tiempo
brindado.*

*A mi familia, por su constante
apoyo.*

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a la asesora Mg. Roxana Mendoza Mendocilla por haber acogido y encaminado este trabajo de investigación, a la vez, el reconocimiento a la Dra. Carmen Marín Tello, por haber orientado el desarrollo del mismo y facilitado las instalaciones, así como, los medios necesarios para llevar a cabo gran parte de la ejecución de esta tesis. Del mismo modo hago mención de mi más sincero agradecimiento a todas las personas tanto de la Universidad Privada Antenor Orrego como de la Universidad Nacional de Trujillo, que de una u otra manera, se sintieron comprometidas y colaboraron en la realización de la misma.

RESUMEN

El presente trabajo de investigación consistió en la extracción, por medio acuoso, de los taninos contenidos en el extracto seco pulverizado de las vainas de los frutos maduros de una planta de tara (*Caesalpinia spinosa*) proveniente de la sierra liberteña, previamente reconocida por el herbario institucional de la UPAO; para posteriormente, ser enfrentados a ooquistes debidamente identificados y cuantificados del género *Eimeria*, con específica patogenicidad en aves de producción. Subsiguientemente, en esta investigación se necesitó obtener los datos cualitativos y cuantitativos de taninos en la muestra de tara, en tal sentido, se determinó la presencia de los taninos mediante la prueba de cloruro férrico (FeCl_3) y la determinación cuantitativa se la realizó mediante espectrofotometría, en donde se obtuvo el valor de 45% de taninos análogos al ácido gálico. A partir de estos datos se pudo establecer las diferentes concentraciones de los tratamientos a los que se enfrentarían los ooquistes vacunales, es así que, se definieron 10 tratamientos de concentraciones crecientes y 2 controles con 5 repeticiones cada uno. Las lecturas se realizaron en el microscópico óptico bajo cámara de Neubauer con contraste verde, y para mayor fiabilidad se las realizaron en 5 tiempos, estableciéndose que el mayor número de ooquistes afectados con nivel de significancia estadística se vio a las 48 horas, con ese resultado se evaluó la diferencia de medias de los tratamientos, obteniéndose la concentración de 50 000 ppm como la mejor con un 55% de ooquistes afectados en promedio a las 48 horas de exposición *in vitro*.

ABSTRACT

This research consisted in the watery extraction of the tannins contained in the powdered dry extract of tara pod`s (*Caesalpinia spinosa*), after this, the extract was confronted with oocysts of *Eimeria* sp. The presence of tannins was determined by the ferric chloride (FeCl_3) test and the quantitative determination was released by spectrophotometry, resulting the value of 45% of tannins analogous to gallic acid. From these data it was possible to establish the different concentrations of each treatment, in this case we had 10 treatments with increasing concentrations and 2 controls with 5 repetitions each one. The evaluations were made using the optical microscope under a Neubauer chamber with green contrast, they were made in 5 times, establishing the most affected oocysts with 48 hours of exposure, with this result, we evaluated the treatments at this time, obtaining the concentration of 50 000 ppm as the best with 55% in average of affected oocysts.

PRESENTACIÓN

Señores miembros del jurado evaluador:

En cumplimiento con las disposiciones legales vigentes contenidas en el Reglamento General de Grados y Títulos de la Universidad Privada Antenor Orrego, aprobado por Resolución de Consejo Directivo N.º 144-2021-CD-UPAO, someto a vuestra consideración el presente trabajo de tesis, titulado: “EXTRACCIÓN Y EVALUACIÓN DE LOS TANINOS DE TARA (*Caesalpinia spinosa*) SOBRE LA INTEGRIDAD DE OOQUISTES DE *Eimeria* sp. EN CONDICIONES *in vitro*” para su aprobación, como uno de los requisitos indispensables para obtener el título profesional de Médico Veterinario Zootecnista.

Trujillo, Abril de 2022

Br. León Burgos, Gary Erick.

ÍNDICE

	Pág.
DEDICATORIA.....	i
AGRADECIMIENTOS.....	ii
RESUMEN.....	iii
ABSTRACT.....	iv
ÍNDICE.....	vi
ÍNDICE DE CUADROS.....	vii
ÍNDICE DE FIGURAS.....	viii
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	3
2.1. Coccidiosis aviar.....	3
2.2. Tara (<i>Caesalpinia spinosa</i>).....	11
2.3. Taninos.....	12
III. MATERIALES Y MÉTODOS.....	17
3.1. Lugar experimental.....	17
3.2. Ensayo 1.....	17
3.3. Ensayo 2.....	21
IV. RESULTADOS.....	24
4.1. Ensayo 1.....	24
4.2. Ensayo 2.....	26
V. DISCUSIÓN.....	31
VI. CONCLUSIONES.....	35
VII. RECOMENDACIONES.....	36
VIII. BIBLIOGRAFÍA.....	37
IX. ANEXOS.....	44

ÍNDICE DE CUADROS

	Pág.
Cuadro 1. Características farmacológicas de los principales fármacos anticoccidiales de uso comercial.....	10
Cuadro 2. Restricciones de los principales fármacos anticoccidiales de uso comercial.....	11
Cuadro 3. Recuento de ooquistes por dosis de la vacuna EVANT ^{MR}	21
Cuadro 4. Composición de los tratamientos a evaluar.....	23
Cuadro 5. Valores de concentración, absorbancia y estandarización de la curva de calibración.....	26
Cuadro 6. Afectación promedio de los ooquistes de <i>Eimeria</i> sp. en diferentes periodos de exposición por tratamiento.....	27
Cuadro 7. Análisis estadístico de los resultados obtenidos entre tratamientos y tiempos de exposición.....	27
Cuadro 8. Prueba de comparaciones múltiples de Tukey ($\alpha=0.05$) para el tiempo de exposición a cada tratamiento.....	28
Cuadro 9. Prueba de comparaciones múltiples de Tukey ($\alpha=0.05$) para el efecto de cada tratamiento.....	29
Cuadro 10. Afectación de ooquistes de <i>Eimeria</i> sp. en diferentes tiempos de exposición por cada unidad experimental.....	45

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Prueba de cloruro férrico para la presencia de taninos.....	24
Figura 2. Curva de calibración con el coeficiente de correlación y la ecuación de regresión lineal.....	25
Figura 4. Afectación promedio de los ooquistes de <i>Eimeria</i> sp. en 48 horas de exposición a cada tratamiento.....	29
Figura 5. Diagrama de cajas de la distribución de datos en cada tratamiento a las 48 horas de exposición.....	30
Figura 6. Afectación de ooquistes de <i>Eimeria</i> sp. en diferentes tiempos de exposición por cada unidad experimental	45

I. INTRODUCCIÓN

La coccidiosis es en el Perú y a nivel mundial la enfermedad parasitaria más costosa y recurrente en la crianza de pollos, estimándose que los costos por uso de aditivos anticoccidiales en todas las áreas de producción comercial superan los 400 millones de dólares por año a nivel mundial (Shanne, 2005). Actualmente, se usan para combatir o prevenir los efectos lesivos de la coccidia, productos químicos de origen sintético tales como la sulfaquinoxalina que bloquea la ruta del ácido paraaminobenzoico y el toltrazuril que inhibe la división celular, los cuales tienden a ocasionar problemas de resistencia, dejando residuos en tejidos que se comercializan y sobrepasando muchas veces los niveles máximos permitidos (Codex Alimentarius, 2017). Debido al poco control sobre los residuos en los productos derivados de la crianza avícola es que terminamos consumiendo de manera indirecta estos medicamentos, significando un riesgo para la salud en cuanto a la generación de resistencia cruzada (Barrios, 2011).

Recientemente se ha dado una tendencia a buscar soluciones innovadoras que tengan como base el uso de productos orgánicos a bajo costo, al respecto se han venido realizando valiosos aportes e investigaciones, empleando el extracto de diferentes plantas como *Quillaja saponaria* (Espejo, 2014), *Saccharum officinarum* (Abbas y otros, 2015), *Ruta pinnata* (López y otros, 2007), *Yucca schidigera* y *Trigonella foenum-graecum* (Rodríguez, 2016); las mismas que han demostrado tener un efecto anticoccidiano y muchos de sus componentes ya son comercializados a nivel nacional como es el caso de las saponinas (MONTANA, 2017), significando un beneficio económico para toda la cadena productiva desde el avicultor siguiendo por el formulador y hasta el importador, estableciéndose un eslabón de producción y comercialización sustentable a partir de un recurso biológico.

Acorde con estas nuevas tendencias y siendo la tara (*Caesalpinia spinosa*) una especie originaria del Perú se plantea explotar el potencial médico que poseen sus taninos y aplicarlos al campo veterinario, precisamente, lo que se busca en esta investigación es evaluar su efecto frente a los principales ooquistes patógenos del género *Eimeria* presentes en aves comerciales.

Algunas de sus propiedades ya estudiadas son su capacidad para unirse a otras macromoléculas como carbohidratos o proteínas, lo cual le confiere en parte su actividad antioxidante (Avilés y otros, 2010), inmunomoduladora (Santander, 2012) y antibacteriana (Huarino, 2011), pero no se ha documentado el aporte que puede tener en el manejo de la coccidiosis aviar, siendo necesario realizar esta investigación, con el fin de encontrar nuevas alternativas de prevención, control y tratamiento con menores costos y riesgos para la salud.

II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1. Coccidiosis aviar

La coccidiosis aviar es una enfermedad parasitaria, ocasionada por diferentes especies del género *Eimeria* (Rosa, 2012), teniendo como manifestaciones clínicas las diarreas sanguinolentas y el decaimiento, en los casos en que la presentación de la enfermedad sea subclínica se verá una alteración de los índices de conversión alimenticia (González, 2005), con esto podemos denotar la magnitud de su impacto en cualquier sistema de crianza.

2.1.1. Etiología

El agente causal de la coccidiosis aviar son diferentes especies del género *Eimeria*, de la familia Eimeriidae y del Phylum Apicomplexa, estos protozoos se multiplican en el interior de las células del tracto intestinal causando lesiones múltiples en los tejidos, con la subsecuente interrupción de la absorción de nutrientes, manifestándose deshidratación, diarrea, enteritis y mortalidad (De Franceschi, 2004). Son huéspedes muy específicos y dentro de las aves tienden a diferenciarse según la porción del tracto intestinal que llegan a colonizar. Así tenemos principalmente a:

E. acervulina, se localiza en la parte superior del intestino delgado, los ooquistes son ovoides con dimensiones de 17.7 – 22.2 x 13.7 – 16.3 μm , la pared del ooquiste es lisa, más delgada en el polo estrecho y con un micrópilo poco apreciable.

E. maxima, se localiza en la parte media del intestino delgado, los ooquistes son ovoides y de mayor tamaño que en el resto de especies, con dimensiones en un intervalo de 21.4 – 42.5 x 16.5 – 29.8 μm , la pared del ooquiste es ligeramente amarillenta, es rugosa y carente de micrópilo.

E. brunetti, se localiza en la parte inferior del intestino delgado, en el recto y en la cloaca, los ooquistes son ovoides de 20.7 – 30.3 x 18.1 – 24.2 μm , la pared es lisa y carece de micrópilo.

E. necatrix, se localiza en intestino delgado y ciegos, los ooquistes son ovoides, con dimensiones en un intervalo de 13.2 – 22.7 x 11.3 – 18.3 μm , ooquistes con pared lisa, incolora y sin micrópilo.

E. tenella, se localiza en los ciegos, los ooquistes son ovoides con dimensiones en un intervalo de 14.2 – 31.2 x 9.5 – 24.8 μm , la pared del ooquiste es lisa y carece de micrópilo (Del Cacho, 2013).

2.1.2. Morfología de los ooquistes

Los ooquistes del género *Eimeria* se aprecian con morfología esférica, oval, elipsoidal, o subesférica. Su pared está formada por una o dos capas de lipoproteínas y puede estar limitada por una membrana. Puede o no haber una abertura en el extremo anterior llamada micrópilo, cubierta por un tapón. Tiene cuatro esporoblastos, cada uno contiene 2 esporozoitos. Puede estar presente un gránulo polar retráctil, un residuo del ooquiste y de los esporoblastos. Los esporoblastos pueden tener en uno de sus extremos una especie de botón, llamado cuerpo de Stiedae. La forma de los esporozoitos es de huso o coma. Los estados parasíticos se encuentran durante algunas etapas de su desarrollo dentro de las células epiteliales principalmente del intestino, aunque algunas tienen otra localización, cada especie tiene un sitio específico en el tracto digestivo (Rosa, 2012).

2.1.3. Ciclo evolutivo

Las aves susceptibles, se infectan, al ingerir junto con el agua o los alimentos, ooquistes esporulados que provienen de otras aves que están parasitadas. Los esporozoitos una vez que salen del ooquiste como primer objetivo buscan las células superficiales del epitelio intestinal para poder ingresar en ellas, y a través de estas pueden alojarse dentro de estructuras más profundas hasta ser ingeridos por los macrófagos y transportados hasta las glándulas de Lieberkhün. Una vez hecho esto, dejan los macrófagos para ingresar en las células epiteliales de la glándula, situándose por debajo del núcleo (Shanne, 2005).

Dentro del epitelio glandular, cada esporozoito se redondea, formando el estado de trofozoito, el cual crece y se convierte en esquizonte, que por un proceso de fisión binaria múltiple asexual, denominado esquizogonia, llegando a formarse en una primera generación hasta 900 merozoitos por cada esquizonte. El ingreso es tan vertiginoso que tan solo en 2.5 a 3 días de haber ocurrido la infección colonizan por completo el lumen del ciego. Una vez estructurado el merozoito, este entra en una nueva célula, se rodea, crece y forma la segunda generación de esquizontes, de donde salen aproximadamente 250 merozoitos, ocurriendo todo esto al quinto día de infección. Algunos merozoitos luego de esta segunda replicación pueden dar lugar a una tercera generación de esquizontes, llegando a formarse entre siete hasta treinta merozoitos más (Rosa, 2012).

Gran parte de los merozoitos pertenecientes a la segunda y a la tercera generación hacen su ingreso en otras nuevas células para iniciar esta vez una fase sexual, denominada gametogonia. El merozoito bajo estas condiciones nuevamente se redondea, crece y algunos serán destinados a formar microgametos, los cuales a su vez, dan lugar a la formación de nuevos microgametos y macrogametos. Los microgametos son producidos en gran cantidad, poseen alta capacidad de desplazamiento por ser biflagelados, invaden la luz intestinal una vez que rompen la célula del hospedero. En el lumen se dedican a ubicar a los macrogametos, una vez ocurre el contacto, lo llegan a penetrar consolidan la fecundación (Del Cacho, 2013).

El cigoto producto de esta fecundación migra al exterior de la célula. Dentro de las características de los macrogametos está la presencia de una o dos capas de gránulos eosinófilos en su citoplasma, su composición es a base de mucoproteínas, las mismas que formarán la pared del ooquiste una vez concluida la fecundación. El desarrollo de esta pared mucoproteica es el que define el momento de tránsito entre un macrogameto fecundado a un ooquiste. Los ooquistes ya en el lumen son expulsados con el contenido fecal por movimientos peristálticos (Rosa, 2012).

2.1.4. Impacto económico

La coccidiosis aviar es una de las enfermedades más importantes en la avicultura mundial, teniendo especial relevancia en los sistemas de crianza intensivos por el hacinamiento y los espacios reducidos que se manejan; es en este tipo de crianza que se evidencian altas tasas de mortalidad, siendo los animales jóvenes, entre la cuarta y sexta semana de edad los más susceptibles, por el contrario, los que parecen ser más resistentes son los animales adultos (Del Cacho, 2013).

En estas aves y en las que se recuperan, la enfermedad ocasiona una baja conversión alimenticia, a pesar que desde hace mucho se emplean medidas preventivas y correctivas para reducir su impacto, no siendo lo suficientemente eficientes para aminorar los costos en los que se incurre, estimándose un presupuesto que sobrepasa los 400 millones de dólares por año en las zonas de producción comercial de aves en el mundo (Shanne, 2005).

En la región no existen reportes exactos de datos contrastados acerca de las pérdidas económicas producidas como consecuencia de los brotes clínicos de la enfermedad, los datos que se posee son estimados en un billón de dólares al año en todo el mundo y específicamente en el caso de aves se calcula que el monto asciende a más de 250 millones de dólares por año, es así que, a inicios del siglo XXI se calculó que la coccidiosis en aves comerciales tenía una trascendencia monetaria anual de cerca de 3 mil millones de dólares americanos, con pérdidas para los productores y la industria avícola mundial (Dalloul y Lillehoj, 2006).

2.1.5. Fármacos anticoccidiales comerciales

Las primeras drogas que salieron al mercado para el control de la coccidiosis fueron las sulfamidas en la década del 40, para la siguiente década se iniciaría el uso del Amprolio y la Nicarbazina que hasta el momento aún se siguen usando, si bien en menor medida por los efectos tóxicos de este último, para que en la década del 90 se empiece a sintetizar otra droga como el diclazuril y sus derivados como el toltrazuril (Botana, 2002).

Dentro de los fármacos producidos unos en mayor o menor medida han sido susceptibles a la generación de resistencia por lo que, la mayoría de programas incluía el uso conjunto o en rotación de estos compuestos con otros denominados ionóforos, entre muchos de los inconvenientes de estas drogas está su toxicidad, en el caso de ionóforos por ningún motivo debe de permitirse su acumulación sobre las dosis permitidas en el organismo del ave por generar problemas en la regulación del balance iónico de las membranas con alta susceptibilidad en células nerviosas y musculares, como es el caso de su empleo conjunto con la tiamulina, así también, la nicarbazina es nociva en situaciones de elevado calor (Chapman y otros, 2013).

Los medicamentos destinados a combatir la coccidiosis en un inicio han tenido éxito controlando la infección, sin embargo, a lo largo de su uso han sido capaces de generar en algunas cepas del parásito poblaciones resistentes (Del Cacho, 2013). En tal sentido, es que pocas son usadas de manera masiva, en la mayoría de los casos se emplean de manera conjunta y en programas de rotación, así mismo, muchas de ellas tienen que ser administradas y dosificadas de manera exacta ya que fácilmente pueden pasar de un efecto terapéutico a uno tóxico, además, varias de estas drogas generan resistencia cruzada con diversos antibióticos, razón por la cual en algunos países se les ha prohibido su uso (Mestorino, 2009).

Otro punto preponderante en determinar el uso o no de uno u otro anticoccidiano es medir sus efectos en base a valores productivos como el índice de conversión alimenticia o pigmentación y no exclusivamente por la aparición de aves infectadas, ya que es muy difícil tener libre al 100 % una explotación intensiva. Un aspecto relevante es determinar el tipo predominante de coccidia que afecta la explotación, ya que de acuerdo a este dato podremos emplear un anticoccidiano que tenga mayor efecto, ya que la localización de las diferentes porciones intestinales o cecales varían entre las diferentes especies de coccidias y así mismo, la susceptibilidad de los diversos anticoccidianos; estos cuidados se tiene debido a que muchos de los anticoccidianos no pueden ser usados de manera indiscriminada o continua por sus efectos tóxicos, de resistencia cruzada y de disminución de los índices productivos (Pomiano, 2000).

La rápida tolerancia que genera el parásito a los diferentes medicamentos se da por una selección continua de individuos que logran sobrevivir a las

concentraciones de uso profiláctico o infradosis en la formulación (Chapman y otros, 2013).

Dentro de los estudios para reducir esta rápida tolerancia a los medicamentos en el control de la coccidiosis está la generación de inmunidad, la que se aprovechada para la elaboración de vacunas como parte de las opciones de tratamiento, en donde se inocular un número controlado de oocistos activos o inactivos capaces de estimular el organismo del ave para que genere una sólida respuesta inmune que le permita enfrentar la agresión de un desafío posterior con oocistos de campo (Elmusharaf y Beynen, 2007).

Entre los fármacos más empleados tenemos a los ionóforos por su menor capacidad de generar resistencia, debido a que su mecanismo de acción requiere que el parásito desarrolle no sólo uno sino varios cambios en su genoma para eludir el efecto desestabilizante de su membrana. Como desventaja tenemos que los ionóforos son bastante sensibles en cuanto a un ligero aumento de la dosis a generar una disminución en el consumo de alimento e interacciones tóxicas (Pomiano, 2000).

Una nueva generación de anticoccidiales consistente en las sapogeninas esteroidales, que son compuestos orgánicos prácticamente atóxicos y sin efecto depresor del consumo, altamente lipofílicos y, por lo tanto, liposolubles, logran desplazarse hasta la membrana celular del parásito fijándose a un fosfolípido que es reconocido por el parásito para poder entrar a la célula intestinal del huésped, formándose así un complejo con este y logrando su precipitación (Rodríguez, 2016).

Pero se demostró que el efecto de las sapogeninas varía en función de la especie coccidial a la cual se enfrenta, debido a que estas sapogeninas esteroidales son

ligeramente menos activas en el control de *E. acervulina*, debido a que esta especie de coccidia tiene la habilidad de ingresar rápidamente en la mucosa intestinal, no pudiendo verse afectada así por la acción del compuesto natural, el mismo que no penetra en las células intestinales sino su acción tan solo la ejerce a nivel luminal, habiéndose encontrado mayor acción de control frente a otras especies coccidiales como por ejemplo frente a *E. tenella* (Carranza y otros, 2011).

Bajo este mismo criterio es que se busca entender el efecto de nuevos productos de origen natural frente a la coccidiosis aviar para poder tener una opción beneficiosa en comparación con los métodos convencionales químicos, como se describe en los cuadros 1 y 2.

Cuadro 1. Características farmacológicas de los principales fármacos anticoccidiales de uso comercial.

Principio activo	Dosis (ppm)	Modo de acción	Marca comercial	LMR** (ug/kg)
AMPROLIO	125	Antagonista de Vit B1	Coccidrog - Drogavet	500
ROBENIDINA	33	Inhíbe la fosforilación oxidativa	Robenipro-Montana	200
HALOFUGINONA	3	Desconocido	Halocur - MSD	100
ZOALENO	125	Relacionada con la roxarsona	Zoamix - Zoetis	3000
NICARBAZINA	125	Inhíbe la glucólisis y la síntesis de ADN	Procox - Montana	200
TOLTRAZURIL	25-75	Inhíbe la división celular y a nivel de plásmido	Tolcox - Biomont	100
DICLAZURIL	1	Ruptura de membrana por complejos Na y K	Baycox - Bayer	500
SULFAQUINOXALINA	30*	Bloquea el PABA	Sulf K - Mercuria	100
ROXARSONA	50*	Bloqueo de piruvato dehidrogenasa	CocciAid - Montana	500
DECOQUINATO	27-30	Bloqueo de sintasa de timidina (respiración)	Deccox - Zoetis	1000
CLOPIDOL	125	Afecta la síntesis de ADN	Propidol - Montana	5000
MONENSINA	90-120	Incremento del ingreso de Na en la célula	Monsigran - Invetsa	10
SALINOMICINA	60	Incremento del ingreso de Na en la célula	Saligran - Invetsa	350
LASALOCIDA	125	Incremento del ingreso de Ca en la célula	Avatec 15 - Zoetis	20

*Unidades en mg/kg de peso vivo.

** LMR en músculo.

Adaptado de Sumano (2006); Botana (2002); Mestorino (2009); Chapman y otros (2013).

Cuadro 2. Restricciones de los principales fármacos anticoccidiales de uso comercial.

PRINCIPIO ACTIVO	Efecto adverso	Espectro	Estado	Tiempo de retiro (días)	
				carne	huevo
AMPROLIO	Genera resistencia rápido	Reducido	Permitido	5	10
ROBENIDINA	Baja la conversión alimenticia	Amplio	Permitido	5	5
HALOFUGINONA	Inflamación catarral	Amplio	Permitido	5	5
ZOALENO	Reducción de conversión alimenticia	Amplio	Permitido	3	No
NICARBAZINA	Suprime el crecimiento y producción	Amplio	UE 2001	9	No
TOLTRAZURIL	Genera resistencia rápido	Amplio	Permitido	21	No
DICLAZURIL	Genera resistencia rápido	Reducido	Permitido	5	5
SULFAQUINOXALINA	Antagonismo de la vitamina K	Amplio	Permitido	10	No
ROXARSONA	Acumulación de arsénico	Muy reducido	UE 1999	10	10
DECOQUINATO	Genera resistencia rápido	Reducido	Permitido	0	No
CLOPIDOL	Inapetencia	Amplio	Permitido	5	No
MONENSINA	Aumento sérico de potasio	Amplio	UE 2003	5	No
SALINOMICINA	Síndrome de ave caída	Amplio	UE 2003	5	8
LASALOCIDA	Aumento sérico de sodio y potasio	Amplio	Permitido	5	5

Adaptado de Sumano (2006); Botana (2002); Mestorino (2009); Chapman y otros (2013)

2.2. Tara (*Caesalpinia spinosa*)

La tara es una especie arbórea del género *Caesalpinia*, de distribución pantropical en bosques, sabanas y semidesiertos, e incluye alrededor de 150 especies, de las que 40 están presentes en Sudamérica. En el Perú, la tara se encuentra a lo largo de toda la costa, desde Piura hasta Tacna, y en la sierra en los departamentos de Ancash, Apurímac, Ayacucho, Cajamarca, Cusco, Huánuco, Huancavelica, Junín, La Libertad y Pasco (Dostert, 2009). El aprovechamiento de los frutos permite obtener numerosos productos de interés, entre los cuales se destacan los taninos presentes en la vaina y los poligalactomananos como agentes espesantes o gomas y los mucílagos. La vaina representa el 62% del peso de los frutos y es la que precisamente posee la mayor concentración de taninos que oscila entre 40% y 60% (De La Cruz, 2004).

2.3. Taninos

Los taninos son compuestos polifenólicos naturales, de origen vegetal, que tienen propiedades astringentes y dan, en conjunción con sales férricas o ferrosas, coloraciones azul oscura, negra o verde. Estos compuestos fenólicos son solubles en agua, con pesos moleculares entre 500-3000 uma, que además de dar las reacciones fenólicas comunes, poseen la habilidad de hacer reacción y precipitar alcaloides y otras proteínas. Esto se debe a su capacidad para unirse a macromoléculas como hidratos de carbono y proteínas. Precipitan también con sales de metales pesados. Se puede obtener frecuentemente disoluciones coloidales en agua, solubles también en alcohol y en acetona e insolubles en disolventes orgánicos apolares. Dentro del tejido parenquimatoso vegetal los taninos suelen encontrarse en las vacuolas celulares, combinados con alcaloides y proteínas (Márquez y Suárez, 2008).

2.3.1. Taninos hidrolizables

A los taninos hidrolizables se les denomina también gálicos o pirogálicos. Estos taninos, como su denominación indica, se hidrolizan con facilidad, tanto por ácidos y álcalis como por vía enzimática. Se localizan en algunas plantas de la clase Dicotiledónea, especialmente en las familias Fabaceae o Leguminosae y Anacardiaceae. Se encuentran en este grupo los taninos gálicos propiamente dichos que son polímeros del ácido gálico, ésteres, de un poliol, generalmente de la glucosa con varias moléculas de ácido gálico y los taninos elágicos o elagitaninos también ésteres, pero en este caso del ácido hexahidroxidifénico y sus derivados, el ácido tánico. El ácido hexahidroxidifénico se forma por acoplamiento oxidativo de dos moléculas de ácido gálico. El ácido sikímico es el precursor biogenético del ácido gálico. Se habla también de los llamados taninos complejos que son elagitaninos modificados. Resultan de la unión de un derivado fenilcrománico sobre un éster de glucosa con el ácido hexahidroxidifénico (Isaza, 2007).

2.3.2. Taninos condensados

Se conocen también como no hidrolizables, ya que se hidrolizan con dificultad y, por el contrario, el tratamiento con calor y ácidos minerales origina polímeros de alto peso molecular denominados flobáfenos. Esta clase de taninos se producen en el metabolismo normal de los vegetales por lo que se consideran fisiológicos y se encuentran ampliamente repartidos en el reino vegetal. Químicamente se forman por condensación de catequinas o catecoles (flavanoles) con uniones directas C-C entre las moléculas, generalmente en radicales de posición 4 a 8 o en 4 a 6 y no contienen azúcares en su estructura. Biogenéticamente proceden del metabolismo de los flavonoides, se forman a partir de una flavanona por hidroxilación (Vázquez y otros, 2012).

2.3.3. Extracción de taninos

De la vaina del fruto de la planta de tara se obtiene un polvo por desecación y molienda, el cual contiene un gran porcentaje de taninos, alrededor de 40 % (Briceño y Ríos, 2012) y 52 % en plantas muestreadas en la sierra liberteña (Custodio, 2017). El polvo se consigue mediante un proceso mecánico simple de trituración de vaina, previamente despepitada, obteniendo como producto un aserrín fino de coloración amarilla clara (Custodio, 2017). Se logra la extracción mediante un proceso de concentración, empleando como solventes agua destilada y una solución etanólica al 50% o acetona, ya sea si requiere extraer taninos hidrolizables o condensados. La fibra y el polvo pasan por el proceso de extracción bajo los siguientes parámetros: temperatura 65°-67 °C, tiempo 30-40 minutos, relación agua/polvo 5/1 a 4/1, número de lavados 4-5. La purificación del extracto líquido se realiza por procedimientos sucesivos de filtrado y decantación. El secado del extracto se realiza por atomización. Obteniéndose una humedad variable entre 5% - 4%, taninos 66% - 71.5%, no taninos 27% - 19%, cenizas 3% - 3.5% De este extracto de Tara se puede obtener en mayor o menor medida ácido tánico y ácido galotánico o gálico (De La Cruz, 2004).

2.3.4. Análisis de taninos

Antes de iniciar cualquier estudio fitoquímico se debe de realizar un tamizaje, en donde se establecerá la presencia de diferentes metabolitos secundarios del tejido vegetal, entre los que podemos encontrar flavonoides, terpenos, alcaloides, saponinas, taninos, etc. (Castro y otros, 2013).

Según Lock (2016), dentro de los métodos de análisis de taninos se tienen:

2.3.4.1. Absorción de columna de piel en polvo

Esta determinación se fundamenta en la capacidad que tiene los taninos para precipitar proteínas. En donde se hace pasar una solución conteniendo los taninos a través de una columna de piel, con el fin de que estos se adhieran a las proteínas que tiene este sustrato de piel.

La cantidad de taninos absorbidos por esta columna es determinada pesando la piel de manera previa y luego de que tuvo contacto con la solución de taninos, se calcula la diferencia de dichos resultados y este valor correspondería a la cantidad de taninos absorbidos.

2.3.4.2. Difusión en gel

Para esta determinación se tiene que disponer de un gel de albúmina de suero bovino, el cual se introduce en una cápsula, realizándose un agujero central en el cual se debe colocar la muestra en cuestión. La difusión de los taninos en el gel provoca una precipitación radial de la proteína de la albúmina, y el área que abarque esta precipitación será directamente proporcional a la concentración que existe de taninos en la solución.

2.3.4.3. Lowenthal o titulación con permanganato

El método de Lowenthal es un método cuantitativo para la determinación de taninos, el cual se basa en la oxidación de fenoles por medio de una solución de permanganato de potasio en presencia de índigo carmín que actúa como un indicador redox que muestra el punto final.

2.3.4.4. Método de Folin-Ciocalteu

Esta determinación es la más empleada para cuantificar fenoles totales en alimentos o diluciones de tejido vegetal. Consiste en generar que todo compuestos con anillo fenólico reaccione con el reactivo de Folin-Ciocalteu, en un rango de pH alcalino. Como resultado se genera una pigmentación azulada, la misma que es cuantificada con el uso del espectrofotómetro a un rango de longitud de onda de 750 hasta 765 nm. El resultado es la formación de complejos fosfomolibdico – fosfotúngstico, debido a que reactivo contiene una mezcla de molibdato y tungstato sódico, que reaccionan con cualquier tipo de fenol que se encuentre en la solución (García y otros, 2015).

2.3.4.5. Método de Stiasny

Esta es una determinación por gravimetría de los taninos condensados que se encuentran en muestras líquidas o liofilizadas. A este método también se conoce como número de Stiasny, este método permite estimar la cantidad de compuestos poliflavonoides o taninos condensados, que van reaccionar con formaldehído en medio ácido; el valor de Stiasny es directamente proporcional a la concentración de taninos condensados en un extracto (Rosales y González, 2003).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Lugar experimental

Laboratorio de Fisiología y Productos Naturales de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de Trujillo, ubicado en la Av. Juan Pablo II s/n, Trujillo, La Libertad.

Laboratorios F101 y F102 de la E.A.P. de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UPAO, ubicada en la Av. América Sur 3145, Trujillo, La Libertad.

3.2. Ensayo 1: Extracción de los taninos de tara (*Caesalpinia spinosa*)

3.2.1. Obtención y procesamiento de la muestra de tara

Las muestras se obtuvieron de una planta de tara (*Caesalpinia spinosa*) procedente del distrito la Cuesta en la provincia de Otuzco en la Libertad, ubicada a una altura de 2 100 m.s.n.m. con coordenadas geográficas 7°54'31"S 78°41'06"O; localidad elegida como referente por haber obtenido un valor de 52% de taninos en una investigación previa por Custodio en el 2017, comparada con el 40% obtenido en otras localidades como Coina según Briceño y Ríos en el 2012. Una vez obtenidas las muestras se colectó el material vegetal representativo de la especie para someterlo a un proceso de conservación y calificar como piezas de herbario para proceder con su identificación y almacenamiento en el Herbario Antenor Orrego (HAO), siendo el director del Museo de Historia Natural y Cultura quién emitió la CONSTANCIA N°16-2019-HAO-UPAO donde se afirma que el material vegetal presentado corresponde a la especie *Caesalpinia spinosa* (Molina) Kuntze (Fabaceae).

Una vez identificada y confirmada la especie se continuó con su procesamiento, como materia prima se usó una muestra de 200 g de la vaina del fruto, teniendo en cuenta seleccionar frutos maduros con coloraciones rojizo a café claro en función a la homogeneidad de color y ausencia de defectos superficiales, se separaron las semillas, trillando, moliendo y tamizando las vainas para obtener polvo con granulometría de 0.5 mm, del cual se usó una vez deshidratado en la mufla a 40 °C una cantidad de 10 g.

3.2.2. Extracción y concentración de taninos en medio acuoso por calentamiento.

Con la muestra de 10 g del polvo deshidratado de tara se pesó una fracción de 0.4 g, luego se pasó este polvo a un vaso de precipitación con 70 mL de agua destilada, mezclándolo con la varilla de agitación hasta que las partículas quedaron inmersas en la fase líquida. Se procedió a calentar la muestra en una cocina eléctrica a una temperatura de 60 °C por 10 minutos. Una vez enfriado se lo enrazó hasta un volumen de 100 mL, luego se procedió a su filtrado con papel Whatman N° 40 mediante succión al vacío, este extracto se lo vertió en un frasco plástico ámbar y se lo protegió con papel aluminio (Miranda y Cuéllar, 2001).

3.2.3. Prueba cualitativa de metabolitos secundarios

Se utilizaron pruebas de coloración y precipitación, según Lock (2016), para lo cual se usó nuevamente una fracción de 0.4 g de la muestra de polvo de tara, el cual fue disuelto en 10 mL de agua destilada; luego se colocó 1 mL de esta solución en un tubo Eppendorf, para proceder a realizar la reacción que se detalla a continuación:

3.2.3.1. Prueba control

Se colocó 1 mL de agua destilada en un tubo Eppendorf como prueba control, luego se adicionó 3 gotas de FeCl₃ al 5%. Este reactivo normalmente presenta una coloración amarillenta (Delporte, 2010).

3.2.3.2. Reacción con cloruro férrico (FeCl₃)

Se colocó 1 mL del extracto acuoso de vaina de tara (40 mg/mL) en un tubo Eppendorf, luego se adicionó 3 gotas FeCl₃ al 5%. La disolución de tricloruro férrico actúa como un oxidante débil, formando complejos coloreados con los fenoles, denominados quinonas, los que se tornan verde oscuro, hasta azul negruzco, significando el cambio de coloración como positiva a esta prueba, es decir se confirma la presencia de taninos (Lock, 2016).

3.2.4. Prueba cuantitativa de taninos

La determinación de la concentración de taninos de tara se realizó siguiendo el método colorimétrico con el reactivo de Folin-Ciocalteu, permitiendo medir la coloración azul formada, mediante un espectrofotómetro a 760 nm (García y otros, 2015).

3.2.4.1. Preparación de curva de calibración

Se inició con la preparación de una solución patrón para lo cual se pesó 0.01 g de ácido gálico y se enrasó en una fiola de 100 mL con agua destilada, de esta solución madre se procedió a realizar una serie de diluciones con agua destilada para obtener concentraciones de 1.0, 1.5, 2.0, 3.0 y 4.0 mg/L. Para ello se colocó en distintos tubos Eppendorf protegidos de la luz 20, 30, 40, 60 y 80 uL de la solución patrón, a cada tubo se le adicionó 250 µL del reactivo de Folin-Ciocalteu, se agitó y luego se agregó 0,75 mL de carbonato de sodio al 20%. La mezcla se aforó a un volumen final de 2 mL usando agua destilada, en donde el blanco tuvo los mismos componentes excepto el ácido gálico, todos los tubos se dejaron reposar por 10 minutos (Cruzado y otros, 2013).

Con respecto a la muestra obtenida del extracto de taninos esta se disolvió en relación 1:10 de manera separada en una fiola aforada a 100 mL, de esa nueva dilución se hizo adicionalmente otra de 1:100 para que pueda ser leída por el espectrofotómetro, tomándose con una micropipeta sólo la cantidad de 50 uL para colocarlos en un frasco Eppendorf.

Luego se agregó 250 µL de reactivo de Folin-Ciocalteu y se dejó reposar por dos minutos, transcurrido este tiempo se añadió 750 µL de carbonato de sodio al 20 % v/v, la mezcla se aforó a un volumen final de 5 mL usando agua destilada y finalmente el tubo se cubrió con papel aluminio. Todos los tubos se colocaron en el ultrasonido por cinco minutos. A continuación, las soluciones se llevaron al espectrofotómetro, para medir las absorbancias a 760 nm y poder realizar la curva de calibración, obteniendo así la concentración de taninos en la muestra (Jativa, 2011).

3.2.4.2. Tratamiento de los resultados de la curva de calibración

Con los resultados obtenidos de las lecturas de absorbancia se realizó la respectiva curva de regresión lineal para encontrar el valor de la muestra del extracto acuoso de tara diluido 1:10, en tal sentido se aplicó la siguiente fórmula para hallar el valor en porcentaje de concentración de equivalentes de ácido gálico en la muestra seca de tara pulverizada (Cruzado y otros, 2013).

Fórmula para calcular la concentración de ác.gálico en la muestra:

$$A (\%) = 10 \left[X \frac{\text{mg A.G.}}{\text{L solución}} \right] \left[\frac{1 \text{ L solución}}{1000 \text{ mL}} \right] \left[\frac{100 \text{ mL}}{0.4 \text{ g M.S.}} \right] \left[\frac{1 \text{ g A.G.}}{1000 \text{ mg A.G.}} \right] \times 100$$

Donde:

A: Concentración en porcentaje de ácido gálico en la muestra seca de polvo de tara.

X: Concentración en ppm de ácido gálico en el extracto acuoso de tara diluido 1:10.

A.G.: Ácido gálico.

M.S.: Muestra seca.

3.2.5. Oocistos de *Eimeria* sp.

Se emplearon oocistos vivos provenientes de un vial por mil dosis de la vacuna viva EVANT^{MR}, producida por Laboratorios HIPRA. Cada dosis de vacuna de 0,007 mL contiene el siguiente recuento de ooquistes:

Cuadro 3. Recuento de ooquistes por dosis de la vacuna EVANT^{MR}

Especie coccidiana	Nº ooquistes vivos
<i>Eimeria acervulina</i>	332-450*
<i>Eimeria máxima</i>	196-265*
<i>Eimeria mitis</i>	293-397*
<i>Eimeria praecox</i>	393-397*
<i>Eimeria tenella</i>	276-374*

*= Valores según datos *in vitro* del fabricante

Adaptado de HIPRA Animal Health (2021).

3.3. Ensayo 2: Preparación y evaluación de diferentes diluciones de taninos de tara frente a la integridad de los ooquistes de *Eimeria* sp.

3.3.1. Preparación de diferentes concentraciones de taninos de tara

Con los valores de concentración de taninos análogos al ácido gálico ya definidos en el ensayo 1, es que se procedió a realizar el extracto de una solución madre a 150 000 ppm, para lo cual con la muestra de 10 g del polvo deshidratado de tara se pesó una fracción de 5 g, luego se pasó este polvo a un vaso de precipitación con 15 mL de agua destilada, mezclándolo con la varilla de agitación hasta que las partículas quedaron inmersas en la fase líquida. Se procedió a calentar la muestra en una cocina eléctrica a una temperatura de 60 °C por 10 minutos.

Una vez enfriado se lo enrazó nuevamente hasta un volumen de 15 mL, luego se procedió a su filtrado con papel Whatman N° 40 mediante succión al vacío. El extracto obtenido fue vertido en un frasco de vidrio ámbar y se lo protegió con papel aluminio, a partir de esta solución madre se realizaron las diferentes diluciones para dar origen a cada tratamiento a evaluar (León, 2018).

3.3.2. Preparación de los tratamientos como desafío a los ooquistes de *Eimeria* sp.

Se usaron 60 tubos Eppendorf, a los cuales se les agregó las alícuotas respectivas de la solución madre para obtener la concentración de cada tratamiento según muestra el cuadro 4, como control positivo se empleó agua destilada y como control negativo se empleó una solución de formaldehído al 5%. Finalmente se extrajo 50 uL de la solución de ooquistes provenientes de la vacuna EVANT^{MR} y se los colocó en cada uno de los tubos Eppendorf del ensayo, a estas soluciones se las dejó a temperatura ambiente para ser observadas luego al microscopio óptico y obtener la lectura de los resultados (León, 2018).

3.3.3. Variable independiente

Taninos extraídos de la planta de tara (*Caesalpinia spinosa*) análogos al ácido gálico.

3.3.4. Tratamientos

En el cuadro 4 se muestra las diferentes cantidades en uL de los componentes empleados para constituir cada tratamiento, llegando a establecer un volumen final de 1 mL de solución por cada unidad experimental.

Cuadro 4. Composición de los tratamientos a evaluar.

Clave de tratamiento	Concentración (ppm)	Componentes (uL)				Total (mL)
		EVANT*	Formol 36%	Solución madre**	Agua destilada	
T ₀₋	0	50	140	0	810	1
T ₀₊	0	50	0	0	950	1
T ₁	1000	50	0	7	943	1
T ₂	2000	50	0	13	937	1
T ₃	3000	50	0	20	930	1
T ₄	5000	50	0	33	917	1
T ₅	10000	50	0	67	883	1
T ₆	20000	50	0	133	817	1
T ₇	30000	50	0	200	750	1
T ₈	50000	50	0	333	617	1
T ₉	100000	50	0	667	283	1
T ₁₀	140000	50	0	935	15	1

*= Marca del vial vacunal

**= Solución madre con 150 000 ppm

T₀₋= Tratamiento control negativo

T₀₊= Tratamiento control positivo

3.3.5. Variable dependiente

La integridad de los ooquistes de *Eimeria* sp.

La evaluación de esta variable se realizó por visualización directa en el microscopio óptico a 400X, colocando 20 uL de cada unidad experimental sobre la cámara de Neubauer, registrando así los datos obtenidos en 5 periodos, 0, 12, 24, 48 y 72 horas para su posterior análisis.

3.3.6. Análisis estadístico

Los datos obtenidos al evaluar la integridad de ooquistes de *Eimeria* sp. bajo las diferentes concentraciones de los taninos de tara fueron promediados y analizados a través del Análisis de Varianza bajo la función estadística $Y_j = \mu + a_i + e_i$; en donde “ μ ” fue asignado a la media general, “ i ” se asignó al efecto de la variable independiente o en estudio y “ e ” al efecto del error experimental. Los valores promediados fueron tamizados a través de Prueba de Tukey (0.05).

IV. RESULTADOS

4.1. Ensayo 1: Determinación cuantitativa y cualitativa de taninos.

4.1.1. Prueba cualitativa

La figura 1 muestra el viraje de coloración hacia un azul verdoso intenso, lo cual significa que el cloruro férrico (FeCl_3) generó una reacción de oxidación en las moléculas fenólicas presentes en la dilución, originando la formación del compuesto denominado quinona, el cual presenta una coloración intensa debido a la oxidación que generó el cloruro férrico en el radical OH del anillo bencénico del fenol, perdiendo su hidrógeno, mientras en el control permanece invariable la coloración por no tener la presencia de fenoles. La intensidad en el viraje de coloración es proporcional a los grupos OH presentes en la dilución, es decir, se hace más intensa conforme mayor cantidad de taninos esté disuelta en la solución.

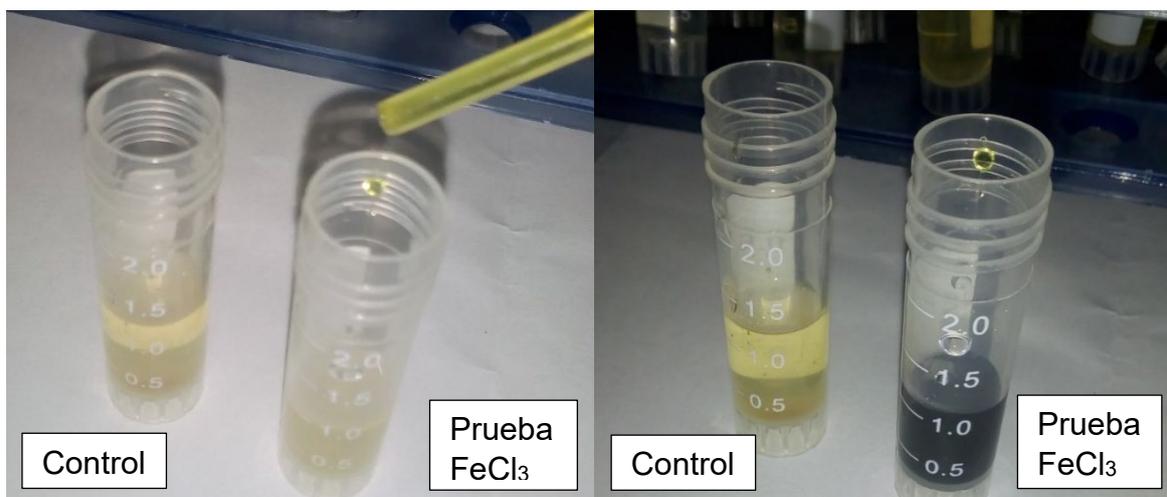


Figura 1. Prueba de cloruro férrico para la presencia de taninos.

4.1.2. Prueba cuantitativa

En la figura 2 se observa la representación gráfica de los valores obtenidos mediante espectrofotometría con lecturas a 760 nm de longitud de onda, la misma que sirvió para establecer la ecuación de regresión lineal y poder estandarizar la línea de tendencia para proyectar así, las respectivas concentraciones en función a las lecturas de absorbancia obtenidas, siendo su uniformidad lineal validada matemáticamente por el coeficiente de regresión cercano a la unidad.

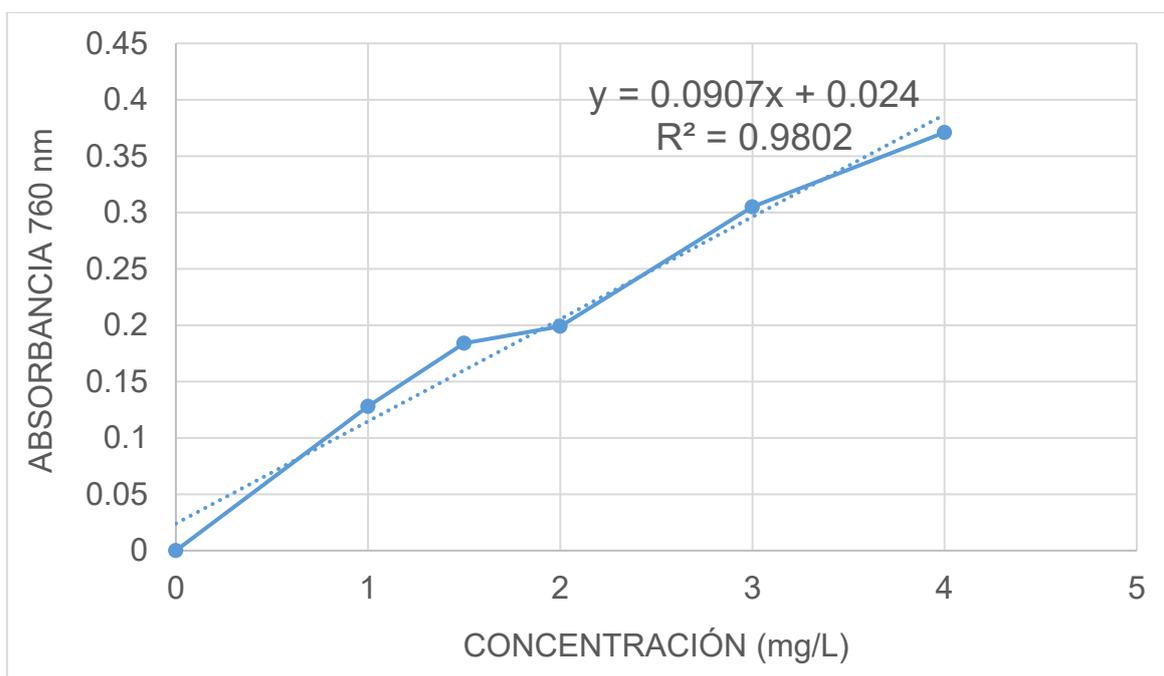


Figura 2. Curva de calibración con el coeficiente de correlación y la ecuación de regresión lineal.

En el cuadro 5 se presentan cada uno de los valores absorbancia obtenidos en la lectura del espectrofotómetro a 760 nm y sus valores respectivos estandarizados en función a su ecuación de regresión lineal antes determinada mediante la gráfica de la figura 3.

Cuadro 5. Valores de concentración, absorbancia y estandarización de la curva de calibración.

Concentración preparada (mg/L)	Absorbancia	Concentración estandarizada (mg/L)
1.0	0.128	1.2
1.5	0.184	1.8
2.0	0.199	1.9
3.0	0.305	3.1
4.0	0.371	3.8
Tara 1:100	0.187	1.8

Con el valor obtenido por estandarización de la lectura de absorbancia de la muestra de dilución del extracto de tara 1:100 se procedió a transformar este resultado de la curva de calibración a porcentaje de concentración de taninos equivalentes a ácido gálico hasta homologarlos con la muestra colectada originalmente, resultando por sustitución el siguiente valor:

$$45 \% = 10 \left[180 \frac{\text{mg A. G.}}{\text{L solución}} \right] \left[\frac{1 \text{ L solución}}{1000 \text{ mL}} \right] \left[\frac{100 \text{ mL}}{0.4 \text{ g M. S.}} \right] \left[\frac{1 \text{ g A. G.}}{1000 \text{ mg A. G.}} \right] \times 100$$

4.2. Ensayo 2: Evaluación de diferentes diluciones de taninos de tara frente a la integridad de los ooquistes de *Eimeria* sp.

En el cuadro 6 se muestran los valores en porcentaje de los promedios de ooquistes de *Eimeria* sp. que fueron afectados en diferentes períodos de exposición a cada concentración correspondiente a su respectivo tratamiento.

Cuadro 6. Afectación promedio de los ooquistes de *Eimeria* sp. en diferentes periodos de exposición por tratamiento.

Clave de tratamiento	Tiempo (horas)				
	0	12	24	48	72
T ₀₋	0%	32%	100%	100%	100%
T ₀₊	0%	0%	0%	3%	9%
T ₁	0%	0%	0%	3%	7%
T ₂	0%	0%	0%	12%	13%
T ₃	0%	0%	0%	16%	16%
T ₄	0%	0%	0%	15%	16%
T ₅	0%	0%	0%	18%	14%
T ₆	0%	0%	0%	45%	47%
T ₇	0%	0%	2%	52%	50%
T ₈	0%	0%	0%	55%	54%
T ₉	0%	0%	6%	55%	61%
T ₁₀	0%	0%	11%	60%	61%

En el cuadro 7 se muestra el resultado del análisis de varianza efectuado a los resultados obtenidos en el primer ensayo, en donde se evidencia que la diferencia obtenida tanto entre los diferentes tiempos de lectura, así como, dentro de cada tratamiento es significativa, por lo que se procede a emplear este dato para ejecutar el segundo ensayo.

Cuadro 7. Análisis estadístico (ANOVA) de los resultados obtenidos entre los tratamientos y tiempos de exposición

Variable	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valor F obtenido	Valor F tabla ($\alpha=0.05$)	Decisión
Tratamiento	11	1.772	0.161	6.317	2.014	Significativo
Tiempo	4	1.574	0.393	15.432	2.584	Significativo
Error	44	1.122	0.025			
Total	59	4.467				

En el cuadro 8 se muestran las diferentes agrupaciones con significancia estadística mediante la prueba de Tukey de rango múltiple, en donde se obtuvo que los resultados se consolidaron en tres grupos, siendo el primero las lecturas obtenidas a las cero horas, uno segundo comprendido por las lecturas realizadas a las 12 y 24 horas y finalmente, un tercer grupo comprendido por las lecturas efectuadas a las 48 y 72 horas.

Cuadro 8. Prueba de comparaciones múltiples de Tukey ($\alpha=0.05$) para el tiempo de exposición a cada tratamiento.

Tiempo (horas)	Afectación (%)	Repeticiones	Significancia estadística ($\alpha=0.05$)*
0	0	12	a
12	3	12	ab
24	10	12	ab
48	36	12	c
72	37	12	c

*=Valores de la columna con diferente letra son significativamente diferentes de acuerdo con la prueba de Tukey de rango múltiple ($\alpha=0.05$)

En el cuadro 9 se muestran las diferentes agrupaciones con significancia estadística mediante la prueba de Tukey de rango múltiple, en donde se obtuvo que los resultados se consolidaron en ocho grupos, siendo el primer grupo conformado por las lecturas de T_{0+} , un segundo grupo con las lecturas de T_1 , un tercer grupo las lecturas de T_2 , una cuarta agrupación conformada por las lecturas de T_4 , T_3 y T_5 , un quinto grupo por T_6 , un sexto por T_7 , un séptimo agrupamiento con las lecturas de T_8 , T_9 y T_{10} , finalmente el octavo grupo comprendido por las lecturas de T_{0-} .

Cuadro 9. Prueba de comparaciones múltiples de Tukey ($\alpha=0.05$) para el efecto de cada tratamiento.

Clave de tratamiento	Concentración (ppm)	Afectación (%)	Repeticiones	Significancia estadística ($\alpha=0.05$)*
T ₀₊	0	3	5	a
T ₁	1 000	3	5	ab
T ₂	2 000	11	5	abc
T ₄	5 000	15	5	cd
T ₃	3 000	16	5	cd
T ₅	10 000	18	5	cd
T ₆	20 000	42	5	e
T ₇	30 000	52	5	f
T ₈	50 000	55	5	fg
T ₉	100 000	55	5	fg
T ₁₀	140 000	60	5	fg
T ₀₋	0	100	5	h

*=Valores de la columna con la misma letra no son significativamente diferentes de acuerdo con la prueba de Tukey de rango múltiple ($\alpha=0.05$)

En la figura 3 se muestran mediante un gráfico de barras los valores promedio de cada tratamiento obtenidos en la lectura luego de 48 horas, en esta lectura se evidencia el efecto del control negativo T₀₋ con un 100 % de afectación en la integridad de los ooquistes, mientras que el efecto del control positivo solo generó un grado de afectación en el 3% de los ooquistes de los que se dio lectura.

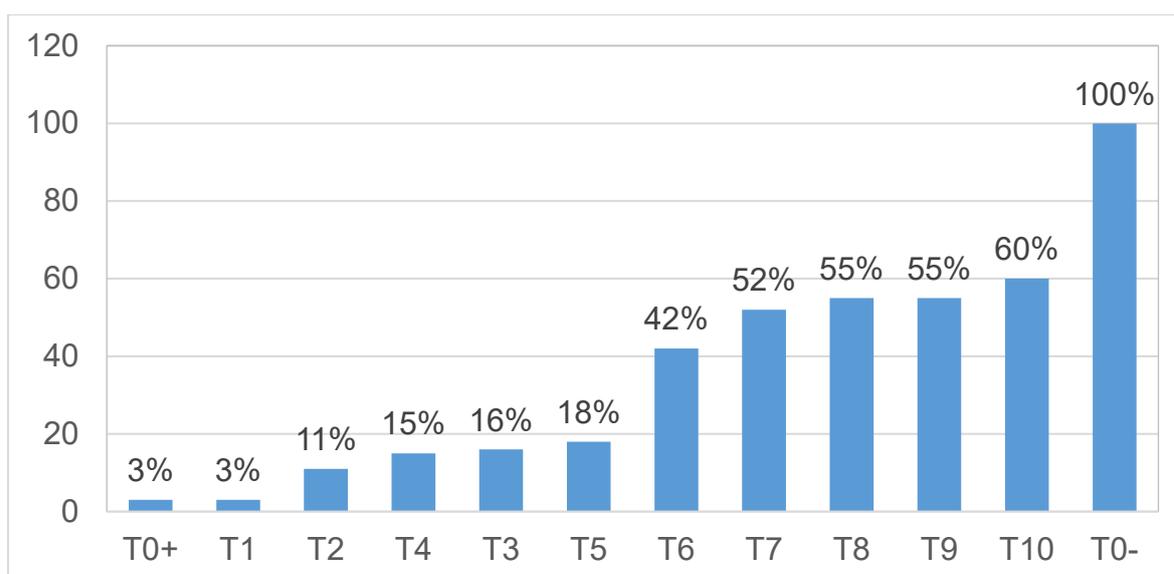


Figura 3. Afectación promedio de los ooquistes de *Eimeria* sp. en 48 horas de exposición a cada tratamiento.

En la figura 4 se observa el diagrama de cajas, que permite ver cómo fue la distribución de los datos obtenidos en cada cuartil con la presentación de algunos valores atípicos, denotando los rangos máximo y mínimo de las lecturas realizadas.

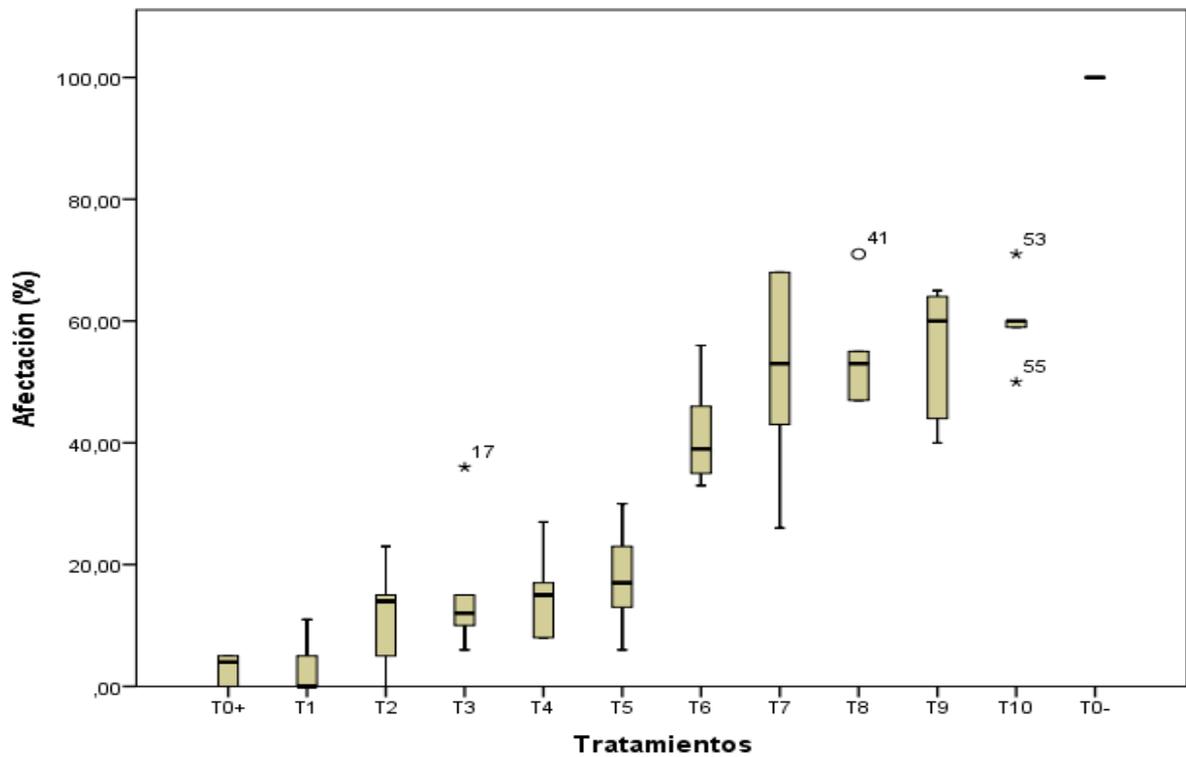


Figura 4. Diagrama de cajas de la distribución de datos en cada tratamiento a las 48 horas de exposición.

V. DISCUSIÓN

De acuerdo a los resultados obtenidos en el ensayo 1, se determinó la presencia de taninos en la muestra de tara, esto es corroborado por el viraje de coloración a un tono azul verdoso descrito por Lock (2016) como indicador confirmatorio al contenido de taninos en la muestra. En el análisis cuantitativo se determinó una concentración de 45% de taninos equivalentes al ácido gálico, el mismo que se encuentra dentro de los valores publicados en zonas cercanas, es así que, Custodio en el 2017, refiere haber obtenido un valor de 52% en el distrito de La Cuesta en la provincia de Otuzco, así mismo, Briceño y Ríos en el 2012 obtuvieron un 40% en la localidad de Coina, dentro de la misma provincia. Estas variaciones son influenciadas por factores tanto ambientales como propios de la planta, es así que, otros autores como León en el 2018 encontró valores entre 0,22 % y 6,03 % en Cuenca, Ecuador, mientras que, en el mismo país, Jativa en el 2011 registró valores entre 42 % y 65%.

En cuanto a los resultados del ensayo 2, el mayor efecto evidenciado sobre la integridad estructural de los ooquistes de *Eimeria* sp, se dieron de manera significativa luego de una exposición de 48 horas, determinando que las lecturas en este periodo fueran seleccionadas para su posterior análisis en cuanto al efecto de cada tratamiento (Mederos y Larrea, 2018), siendo así el tratamiento expuesto a 50 000 ppm el que ocasionó mayor porcentaje de ooquistes registrados como afectados bajo inspección microscópica, no mostrando estadísticamente una diferencia significativa con las concentraciones más elevadas, significando esta concentración como su efecto techo farmacológico (Sumano, 2006). Esta afectación se evidenció como daño estructural a las membranas externas e internas, así como el colapso general de los ooquistes, estos daños se apreciaron en diferentes grados desde una granulación y deformación de las membranas hasta la ruptura y desintegración del ooquiste.

La lectura de los resultados obtenidos se explican según Olivas y otros (2015) por la precipitación de proteínas que hacen los taninos, debido a que estos compuestos normalmente son usados como mecanismo de defensa de las plantas frente a la agresión de patógenos o depredadores, por lo que, entre sus muchos efectos se han descrito principalmente la inhibición enzimática por agregación y desnaturalización proteica que genera en las estructuras tanto cuaternarias como terciarias del andamiaje proteico de las células, es así que, tienden a ocasionar la degradación de membranas de los microorganismos por su facilidad de unión a proteínas y la privación de sustratos en muchas de las reacciones enzimáticas.

Un efecto similar según Barbehenn y Constabel (2011) se da bajo la exposición de taninos de elevado peso molecular sobre células animales, es así que, este tipo de taninos, denominados condensados, son los responsables de muchos de los efectos antinutricionales, por lo que no fueron extraídos y tampoco objeto de estudio, estos comúnmente son encontrados en proporciones altas con respecto al resto de taninos en otras especies como el sorgo por ejemplo, en cuyo caso tienden a ligarse mediante puentes de hidrogeno a muchos nutrientes dificultando su digestión y absorción y que tiene que seguir diversos procesos para su desactivación antes de ser administrados como alimento (Montiel y otros, 2012).

Es así que, en los taninos hidrolizables, que son materia de este estudio, se han descrito según refiere Figueroa y otros (2014) efectos astringentes y regeneradores de daño tisular por esta capacidad de precipitar el colágeno de las células epiteliales de revestimiento, lo cual lo convierte en una sustancia con altas expectativas en el control y tratamiento de infecciones por microorganismos en el tracto entérico. Su misma estructura le permite establecer enlaces no covalentes que conlleva a una liberación progresiva para desarrollar su efecto biológico que tiene que regularse mediante la dosificación controlada de pequeñas cantidades para poder obtener sus efectos descritos como antibiótico, antioxidantes, antiinflamatorio y anti mutagénico (Olivas y otros, 2015).

En los taninos hidrolizables, su acción antioxidante se relaciona con la facilidad que tienen de donar electrones y parar las reacciones en cadena a través de especies reactivas de oxígeno que llevan a la generación de daño en el material genético y la peroxidación lipídica de las membranas celulares (Vázquez y otros, 2012). En estudios inhibitorios de microorganismos realizado por Jativa en el 2011 se reportó que a concentraciones de 10 000 ppm los taninos presentan un efecto antifúngico frente al género *Penicillium* sp con un 100 % de inhibición a esta concentración, pero solo logra un 20 % frente al género *Botrytis* sp enfrentado a esa misma concentración y nula inhibición frente al género *Aspergillus* sp.

Otros estudios de efecto biológico aplicativo de los taninos es el realizado por Martínez en el 2010 frente a helmintos, es así que, encontró que los taninos afectan a la movilidad, nutrición y reproducción de estos, pero concluye que su efecto antihelmíntico es reducido en comparación con los compuestos sintéticos de uso convencional. Avilés en el 2018 determinó que la concentración mínima inhibitoria de los taninos frente a *Staphylococcus aureus* fue de 12,5 ppm, así mismo, tuvo como hallazgo el haber encontrado diferencia significativa en la regeneración tisular del epitelio lesionado frente al control sin tratamiento.

En estudios más relacionados con los microorganismos materia de esta investigación tenemos al realizado por Vázquez y Acosta en el 2015, en donde registraron el efecto depresor que tienen los taninos a una concentración de 15 000 ppm suplementados en la dieta de bovinos frente a la población de protozoarios ruminales *in vivo*, corroborando así, las bases teóricas del efecto a nivel molecular que ejerce esta sustancia frente a una gran variedad de microorganismos, siendo en este caso, un efecto no deseado ya que en el caso de los rumiantes, estos protozoarios desempeñan funciones importantes en su digestión ruminal, pero deja evidencia de la susceptibilidad a la presencia de los taninos en otro tipo de microorganismo protista como los protozoarios que también se ven afectados.

Aparte de este efecto directo contra los microorganismos, uno de los mayores beneficios encontrados de manera indirecta es la mejora de la integridad y salud intestinal que generan los taninos, es así que según Cejas y otros (2011), mencionan que los taninos cumplen con las exigencias del sistema de defensa como antioxidante interfiriendo directamente con los radicales libres, por lo que pueden restaurar el equilibrio oxidante - antioxidante, lo que conduce a la mejora de la integridad intestinal y el rendimiento durante la coccidiosis subclínica, reduciendo el estrés oxidativo y sobretodo la inflamación intestinal.

En otro trabajo específicamente relacionado con la evaluación de su efecto en casos de coccidiosis aviar es el publicado por Tonda y otros en el 2018, que evaluó el efecto del extracto de taninos, específicamente ácido tánico desafiado *in vivo* frente a *Eimeria* sp. en aves línea Cobb 500, en donde halló significancia en la mejora de la salud intestinal, lo cual es explicado nuevamente por la actividad antioxidante, antiinflamatoria y astringente en beneficio de la salud intestinal a la vez de ejercer un efecto directo frente a los coccidios (Qari y otros, 2013).

VI. CONCLUSIONES

1. La concentración de taninos, equivalentes al ácido gálico, en la muestra de polvo seco de vainas de tara (*Caesalpinia spinosa*) fue de 45 %.
2. El mayor porcentaje de daño visualizado en el microscopio óptico a 400X se produjo en 48 horas de exposición y a una concentración de 50 000 ppm de taninos equivalentes al ácido gálico en solución acuosa.
3. El daño se produjo desde granulación y deformación de la membrana externa del parásito siguiendo por la degradación y ruptura de ambas membranas hasta el completo colapso de los ooquistes de *Eimeria* sp.

VII. RECOMENDACIONES

1. Hacer uso de diferentes analitos para determinar el contenido de otros taninos hidrolizables, como por ejemplo, incorporar la cuantificación del ácido tánico dentro del estudio.
2. Continuar con la fase de estudio *in vivo* para determinar el grado de control de la coccidiosis que ejerce la adición de dosis progresivas de taninos en la dieta y relacionarlo con las concentraciones realizadas *in vitro*.
3. Determinar y medir el efecto adicional de los taninos para como antioxidante, antiinflamatorio y astringente a nivel intestinal en aves comerciales.

VIII. BIBLIOGRAFÍA

- ABBAS, A., Z. IQBAL, R. ABBAS, M. KHAN y J. KHAN. 2015. *In vitro* anticoccidial potencial of *Saccharum officinarum* extract against *Eimeria* oocyst. Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas. Volumen 14. N° 6. Págs. 456 – 461.
- AVILÉS, R., J. CARRIÓN, J. HUAMÁN, M. BRAVO, D. RIVERA, N. ROJAS y J. SANTIAGO. 2010. Actividad antioxidante, polifenoles totales y contenido de taninos de extractos de Tara, *Caesalpinia spinosa*. Revista Peruana de Química. Capítulo de Ingeniería Química. Volumen 13. N° 2. Págs. 05–11.
- AVILÉS, R. 2018. Estudio químico y biológico de extractos de la hoja de tara (*Caesalpinia spinosa*). Tesis de pregrado. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Perú.
- BARBEHENN, R. Y P. CONSTABEL. 2011. Tannins in plant–herbivore interactions. Rev. Phytochemistry. N° 72. Vol. 13. Págs. 1551–1565.
- BARRIOS, A. 2011. Estudio de los niveles de residuos de antibióticos en músculo e hígado de pollos beneficiados en la ciudad de Tacna. Tesis de postgrado. Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann. Tacna–Perú.
- BOTANA, L. 2002. Farmacología y Terapéutica Veterinaria. Editorial Mc. Graw-Hill. España.
- BRICEÑO, J. y RIOS J. 2012. Cuantificación de taninos del fruto de *Caesalpinia spinosa* “tara” procedente de cinco distritos de la provincia de Otuzco. Tesis de pregrado. Universidad Nacional de Trujillo. Perú.
- CARRANZA, V., J. OROZCO, J. URIBE, V. FUENTES y A. TAYLOR. 2011. Uso de Sapogeninas Esteroidales en la Prevención de Coccidiosis Aviar. Revista científica. Vol. 21. N° 02. Universidad de Guadalajara. México. Págs. 115 – 117.

- CASTRO, N., A. YÉPEZ y A. PASTOR. 2013. Comparación de tres métodos para determinar el porcentaje de taninos con el método de la norma ASTM D6401 aplicado para la "tara", "quinual", "mimosa" y "pino". Rev. Sociedad Química del Perú. Vol. 79. Nº 4. Lima – Perú.
- CEJAS, E., S. PINTO, F. PROSDÓCIMO, M. BATALLÉ, H. BARRIOS, G. TÉLLEZ Y M. DE FRANCESCHI. 2011. Evaluation of Quebracho red Wood (*Schinopsis lorentzii*) Polyphenolic Vegetable Extract for the Reduction of Coccidiosis in Broiler Chicks. International Journal of Poultry Science. Año. 10. Vol. 5. Págs. 344-349.
- CHAPMAN, D., J. BARTA, D. BLAKE, A. GRUBER, M. JENKINS, N. SMITH, X. SUO y F. TOMLEY. 2013. A selective Review of Advances in Coccidiosis Research: Advances in Parasitology. Vol. 83. Edit. Elsevier. Países Bajos. Págs. 83-171.
- CODEX ALIMENTARIUS. 2017. Maximum residue limits (MRLs) and risk management recommendations (RMRs) for residues of veterinary drugs in foods. 40th Session of the Codex Alimentarius Commission. FAO. Págs.15, 22, 27, 31, 35.
- CRUZADO M., A. PASTOR, N. CASTRO y J. CEDRÓN. 2013. Determinación de compuestos fenólicos y actividad antioxidante de extractos de alcachofa (*Cynara scolymus* L.). Revista de la Sociedad Química del Perú. Vol. 79. Págs. 57-63.
- CUSTODIO, E. 2017. Comparación del contenido de taninos en vaina de tara (*Caesalpinia spinosa*) ecotipo "LA ROJA" procedente de la zona Pedro Galvez, Provincia de San Marcos y Zona La Cuesta, Provincia de Otuzco en tres estados de madurez. Tesis de Pregrado. Universidad Nacional de Trujillo. Perú.

- DALLOUL, R., H. LILLEHOJ. 2006. Poultry coccidiosis: recent advancements in control measures and vaccine development. *Expert Review of Vaccines*. Año 2006. Vol. 5. Págs.143-163. ISSN: 1476-0584.
- DE FRANCESCHI, M. 2004. Coccidiosis Subclínica en Pollos parrilleros. Estudio epidemiológico y consecuencias de su asociación con *Salmonella enteritidis*. Tesis de Doctorado. Universidad nacional de Luján. Argentina.
- DELPORTE, C. 2010. Farmacognosia - Guía Práctica. Química Farmacológica y Toxicología. Universidad de Chile.
- DE LA CRUZ, P. 2004. Aprovechamiento integral y racional de la Tara *Caesalpinia spinosa* – *Caesalpinia tinctoria*. Revista del Instituto de Investigación de la UNMSM. Vol.7 N° 14. Lima – Perú. Págs. 64 - 73.
- DEL CACHO, E. 2013. Coccidiosis: La enfermedad, consecuencias y tratamiento. 50° Congreso Científico de Avicultura. Simposio WPSA-AECA. Universidad de Leida. Zaragoza – España.
- DOSTER N., J. ROQUE, G. BROKAMP, A. CANO, M. LA TORRE y M. WEIGEND. 2009. Datos Botánicos: Tara – *Caesalpinia spinosa* (Molina) Kuntze. Proyecto Perú Biodiverso. 1° Edición. Museo de Historia Natural - UNMSM. Lima – Perú. Pág.3.
- ELMUSHARAF M. y A. BEYNEN. 2007. Coccidiosis in Poultry with Emphasis on Alternative Anticoccidial Treatments. *Annals of The World Association on Animal Pathology*. Utrecht University. Departamento de Nutrición. Países Bajos.
- ESPEJO, J. 2014. Evaluación experimental de las saponinas del Quillay (*Quillaja saponaria*) como inhibidor del desarrollo de coccidias intestinales en pollos de engorda. Tesis pregrado. Universidad de Chile. Santiago–Chile.

- FIGUEROA, O., M. VÁSQUEZ, D. Y D. VILLALOBOS. 2014. Alimentación del paciente con diarrea aguda. Archivos de Puericultura y Pediatría. Rev. Soc. Venezolana de Puericultura y Pediatría. Vol. 77, N° 1. Págs. 41-47.
- GARCÍA, E., I. FERNÁNDEZ y A. FUENTES. 2015. Determinación de Polifenoles Totales por el método de Folin-Ciocalteu. Universidad Politécnica de Valencia. España.
- GONZÁLEZ, H., M. DE FRANCESCHI y H. BARRIOS. 2005. Identificación de especies de coccidios en pollos parrilleros de Buenos Aires y Entre Ríos. Revista de Medicina Veterinaria N° 86. Vol. 4. Págs.154-160.
- HIPRA, Animal Health. 2021. Detalles del producto: HIPRACOX^{MR}. Catálogo HIPRA. España. Recuperado de: <https://www.hipra.com>
- HUARINO, M. 2011. Efecto antibacteriano de *Caesalpinia spinosa* (Tara) sobre flora salival mixta. Tesis de pregrado. Universidad Mayor de San Marcos. Lima – Perú.
- ISAZA, H. 2007. Taninos o polifenoles vegetales. Revista Scientia et Technica. Año 13. N° 33. Pereira – Colombia.
- JATIVA, S. 2011. Determinación del contenido de tanino procedente del guarango (*Caesalpinia spinosa*) y evaluación de su uso como fungicida. Quito – Ecuador.
- LEÓN, M. 2018. Evaluación *in vitro* de la capacidad inhibitoria de taninos presentes en la Tara (*Caesalpinia spinosa*) frente a *Fusarium* sp. Tesis Pregrado. Universidad Politécnica Salesiana. Cuenca – Ecuador.
- LOCK, O. 2016. Investigación Fitoquímica, método de estudio de productos naturales. 3ra. Edición. Fondo Editorial de la PUCP. Lima – Perú.

- LÓPEZ, A., M. MUÑOZ, J. MOLINA, C. HERMOSILLA, A. TAUBERT, D. PEREZ, L. MATOS, A. GUEDES, S. MARTÍN y A. RUIZ. 2007. Actividad *in vitro* de *Ruta pinnata* frente al coccidio caprino *Eimeria ninakohlyakimovae*. Revista Canaria de las Ciencias Veterinarias Nº 8, Artículos científicos. Págs. 17 – 23.
- MÁRQUEZ, D. y A. SUÁREZ. 2008. El uso de taninos condensados como alternativa nutricional y sanitaria en rumiantes. Revista de Medicina Veterinaria. Nº 16. Universidad La Salle. Bogotá – Colombia. Págs. 87 – 109.
- MARTÍNEZ, O. 2010. Mecanismo de acción de las plantas ricas en taninos sobre la población adulta de nemátodos gastrointestinales de pequeños rumiantes. Tesis en cotutela presentada para obtener el grado de Doctor en Ciencias Agropecuarias. Université de Toulouse. Francia.
- MEDEROS, J. C. PRESEDO y R. LARREA. 2018. Fundamentos de la lectura interpretada del antibiograma para médicos de asistencia clínica. Universidad de Ciencias Médicas de La Habana. Cuba.
- MESTORINO, N. 2009. Antimicrobianos en avicultura. Farmacología Especial y Toxicología. Universidad Nacional de la Plata. Argentina. Págs. 62-71.
- MIRANDA, M. y A. CUÉLLAR. 2001. Farmacognosia y Productos Naturales. Edit. Félix Valera. La Habana – Cuba.
- MONTANA S.A. 2017. Vademécum de Aves y Cerdos. Nutrición y Salud Animal. Versión 2. Año 2017. Lima – Perú.
- MONTIEL, M., J. ELIZALDE, F. SANTINI y L. GIORDA. 2012. Desactivación de taninos en grano húmedo de sorgo con polietilenglicol o úrea. Revista Archivo Zootécnico del INTA Balcarcel. Vol. 61. Nº 234. Págs. 235 - 244. Bs.Aires – Argentina.

- OLIVAS, F., A. WALL, G. GONZÁLEZ, J. LÓPEZ, E. ÁLVAREZ, L. DE LA ROSA Y A. RAMOS. 2015. Taninos hidrolizables; bioquímica, aspectos nutricionales y analíticos y efectos en la salud. Rev. Nutrición Hospitalaria. N° 31. Vol. 1. Págs. 55-66.
- POMIANO, D. 2000. Interacción de las coccidias y los anticoccidiales en la nutrición del pollo de engorde. Rev. Mundo avícola y porcino. N° 33. Perú. Págs. 13-15.
- QARI, M., A. MASOOD, M. MIAN, M. SALEEM, M. ZAFAR, Z. IQBAL, M. FAQIR Y M. IRFAN. 2013. Studies on *Emblica officinalis* derived tannins for their immunostimulatory and protective Activities against coccidiosis in industrial broiler chickens. The Scientific World Journal. <https://doi.org/10.1155/2014/378473>
- RODRÍGUEZ, I. 2016. Uso de anticoccidial natural a base de saponinas procedentes de *Yucca schidigeray Trigonellafoenum-graecum* sobre la incidencia de coccidias y respuesta bioeconómica en pollos de engorde. Tesis Pregrado. Universidad Privada Antenor Orrego. Trujillo – Perú.
- ROSA, A. y M. RIBICH. 2012. Parasitología y enfermedades parasitarias en veterinaria. Edit. Hemisferio Sur. Bs.Aires – Argentina.
- ROSALES, M. y R. GONZÁLEZ. 2003. Comparación del contenido de compuestos fenólicos en la corteza de ocho especies de pino. Rev. Madera y Bosques. Vol.9. N°2. Instituto de Ecología. Xalapa - México. Págs.41-49.
- SANTANDER, S. 2012. Efecto inmunomodulador del galactomanano obtenido de *Caesalpina spinosa* y de la fracción acuosa y orgánica de *Petiveria alliacea* sobre células dendríticas humanas derivadas de monocitos. Tesis doctoral. Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá – Colombia.
- SHANNE, S. 2005. Handbook on Poultry Diseases. Segunda Edición. American Soybean Association. Singapur. Pág.134.

SUMANO, H. 2006. Farmacología Veterinaria. Editorial Mc. Graw-Hill. México.

TONDA, R., J. RUBACH, B. LUMPKINS, G. MATHIS y M. POSS. 2018. Effects of tannic acid extract on performance and intestinal health of broiler chickens following coccidiosis vaccination and/or a mixed-species Eimeria challenge. Rev. Poultry Science. Año 9. Vol. 97. Págs. 3031-3042.

VÁSQUEZ M. y N. ACOSTA. 2015. Efecto de la inclusión de taninos como aditivo alimenticio sobre el comportamiento ingestivo, degradabilidad y parámetros de fermentación ruminal en bovinos. Tesis de pregrado. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad De Cundinamarca. Colombia.

VÁZQUEZ A., E. ÁLVAREZ, J. LÓPEZ, A. WALL Y L. DE LA ROSA. 2012. Taninos hidrolizables y condensados: Naturaleza química, ventajas y desventajas de consumo. Rev. Tecnociencia. N° 6. Vol. 2. Págs. 84-93.

X. ANEXOS



UPAO

Museo de Historia Natural y Cultural

HERBARIO ANTONOR ORREGO (HAO)

CONSTANCIA N° 16-2019-HAO-UPAO

El que suscribe, Director del Museo de Historia Natural y Cultural de la Universidad Privada Antenor Orrego, deja:

CONSTANCIA

Que **Gary Erick León Burgos**, estudiante de la carrera profesional de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Privada Antenor Orrego, ha solicitado la determinación de material vegetal, el cual corresponde a la siguiente especie:

Caesalpinia spinosa (Molina) Kuntze (Fabaceae)

El mismo que será utilizado para la tesis titulada: «Efecto de los taninos de tara (*Caesalpinia spinosa*) en la esporulación de ooquistes de *Eimeria* sp. evaluados *in vitro*».

Se expide la presente constancia a solicitud del interesado para los fines que correspondan.

Trujillo, 14 de mayo de 2019



Mg. Segundo Leiva González

Director

Museo de Historia Natural y Cultural

Cuadro 10. Afectación de ooquistes de *Eimeria* sp. en diferentes tiempos de exposición por cada unidad experimental.

TRATAMIENTOS	REPETICIONES	NÚMERO DE OOQUISTES CON DAÑO ESTRUCTURAL														
		0 HORAS			12 HORAS			24 HORAS			48 HORAS			72 HORAS		
		AFFECTADOS	TOTAL	PORCENTAJE	AFFECTADOS	TOTAL	PORCENTAJE	AFFECTADOS	TOTAL	PORCENTAJE	AFFECTADOS	TOTAL	PORCENTAJE	AFFECTADOS	TOTAL	PORCENTAJE
T0	R1	0	14	0%	4	16	25%	14	14	100%	11	11	100%	20	20	100%
	R2	0	12	0%	6	14	43%	11	11	100%	25	25	100%	13	13	100%
	R3	0	18	0%	8	15	53%	22	22	100%	25	25	100%	19	19	100%
	R4	0	11	0%	3	18	17%	25	25	100%	16	16	100%	20	20	100%
	R5	0	23	0%	5	25	20%	16	16	100%	18	18	100%	19	19	100%
T0+	R1	0	10	0%	0	13	0%	0	25	0%	0	22	5%	2	16	13%
	R2	0	21	0%	0	17	0%	0	10	0%	0	19	0%	1	18	6%
	R3	0	17	0%	0	22	0%	0	22	0%	1	23	4%	2	20	10%
	R4	0	13	0%	0	15	0%	0	21	0%	0	15	0%	2	20	10%
	R5	0	25	0%	0	14	0%	0	23	0%	1	21	5%	1	14	7%
T1	R1	0	10	0%	0	10	0%	0	23	0%	0	10	0%	0	18	0%
	R2	0	10	0%	0	10	0%	0	14	0%	0	17	0%	3	25	12%
	R3	0	21	0%	0	24	0%	0	14	0%	1	21	5%	1	25	4%
	R4	0	14	0%	0	11	0%	0	22	0%	0	24	0%	3	24	13%
	R5	0	17	0%	0	21	0%	0	20	0%	2	18	11%	1	20	5%
T2	R1	0	17	0%	0	10	0%	0	17	0%	0	20	5%	0	12	0%
	R2	0	17	0%	0	25	0%	0	22	0%	3	21	14%	5	12	42%
	R3	0	25	0%	0	12	0%	0	22	0%	2	13	15%	1	21	5%
	R4	0	11	0%	0	11	0%	0	17	0%	0	21	0%	2	12	17%
	R5	0	10	0%	0	19	0%	0	16	0%	3	13	23%	0	21	0%
T3	R1	0	24	0%	0	15	0%	0	10	0%	0	18	6%	6	25	24%
	R2	0	16	0%	0	12	0%	0	24	0%	4	11	36%	1	17	6%
	R3	0	11	0%	0	18	0%	0	16	0%	3	25	12%	3	20	15%
	R4	0	14	0%	0	21	0%	0	18	0%	2	13	15%	3	16	19%
	R5	0	25	0%	0	11	0%	0	20	0%	2	21	10%	2	11	18%
T4	R1	0	15	0%	0	21	0%	0	18	0%	0	25	8%	6	21	29%
	R2	0	14	0%	0	14	0%	0	21	0%	2	25	8%	4	25	16%
	R3	0	14	0%	0	11	0%	0	10	0%	4	24	17%	0	19	0%
	R4	0	23	0%	0	22	0%	0	10	0%	3	20	15%	5	23	22%
	R5	0	14	0%	0	23	0%	0	15	0%	4	15	27%	3	23	13%
T5	R1	0	15	0%	0	21	0%	0	20	0%	3	10	30%	3	18	17%
	R2	0	21	0%	0	10	0%	0	25	0%	4	24	20%	4	20	20%
	R3	0	12	0%	0	24	0%	0	20	0%	1	17	6%	2	13	15%
	R4	0	14	0%	0	14	0%	0	14	0%	2	16	13%	3	25	12%
	R5	0	16	0%	0	21	0%	0	21	0%	3	13	23%	1	22	5%
T6	R1	0	25	0%	0	21	0%	0	12	0%	6	17	35%	9	10	90%
	R2	0	25	0%	0	21	0%	0	12	0%	9	16	56%	5	22	23%
	R3	0	20	0%	0	11	0%	0	11	0%	9	23	39%	10	17	59%
	R4	0	23	0%	0	19	0%	0	17	0%	6	13	46%	5	21	24%
	R5	0	21	0%	0	15	0%	0	16	0%	8	24	33%	10	24	42%
T7	R1	0	10	0%	0	18	0%	1	22	5%	10	23	43%	10	22	45%
	R2	0	23	0%	0	16	0%	0	21	0%	8	15	53%	8	16	50%
	R3	0	23	0%	0	20	0%	1	16	6%	5	19	26%	10	20	50%
	R4	0	17	0%	0	10	0%	0	17	0%	13	19	68%	9	18	50%
	R5	0	18	0%	0	22	0%	0	18	0%	13	19	68%	13	23	57%
T8	R1	0	25	0%	0	13	0%	0	17	0%	12	17	71%	11	18	61%
	R2	0	11	0%	0	23	0%	0	16	0%	9	19	47%	11	25	44%
	R3	0	24	0%	0	19	0%	0	11	0%	9	19	47%	10	17	59%
	R4	0	17	0%	0	22	0%	0	13	0%	8	15	53%	10	22	45%
	R5	0	21	0%	0	21	0%	0	20	0%	12	22	55%	9	15	60%
T9	R1	0	20	0%	0	20	0%	1	21	5%	13	20	65%	11	16	69%
	R2	0	11	0%	0	20	0%	0	25	0%	16	25	64%	10	19	53%
	R3	0	10	0%	0	10	0%	2	17	12%	15	25	60%	10	16	63%
	R4	0	25	0%	0	17	0%	0	10	0%	11	25	44%	13	21	62%
	R5	0	12	0%	0	11	0%	2	18	11%	10	25	40%	14	24	58%
T10	R1	0	15	0%	0	23	0%	4	24	17%	10	17	59%	12	17	71%
	R2	0	25	0%	0	21	0%	2	21	10%	9	15	60%	15	21	71%
	R3	0	13	0%	0	22	0%	0	24	0%	12	17	71%	13	23	57%
	R4	0	20	0%	0	20	0%	3	14	21%	12	20	60%	12	18	67%
	R5	0	18	0%	0	16	0%	1	16	6%	11	22	50%	10	24	42%