# Tesina para optar por el título de Biólogo

# "Antioxidantes naturales como aditivos alternativos en alimento de pollo parrillero: Impacto sobre el crecimiento y el desarrollo "

Tesinista: Marcos Fabricio Tarifa	Firma:
Director: Dr. Agustín Luna	Firma:
Co-Director: Dr. Raúl Héctor Marín	Firma:

# UNIVERSIDAD NACIONAL DE CÓRDOBA

Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales Carrera de Ciencias Biológicas

Instituto de Investigaciones Biológicas y Tecnológicas e Instituto de Ciencia y Tecnología de los Alimentos





# "Antioxidantes naturales como aditivos alternativos en alimento de pollo parrillero: Impacto sobre el crecimiento y el desarrollo "

## **Tribunal Examinador**

María Paula Zunino	Firma:
María Carla Lábaque	Firma:
José Sebastián Dambolena	Firma:
Calificación:	
Foobo:	

# **INDICE**

RESUMEN	4
Introducción	5
Objetivo General:	13
Objetivos Específicos:	13
Materiales y Métodos	14
Resultados	18
Consumo de alimento	18
Ganancia de peso	19
Tasa de crecimiento	20
Tasa de conversión de alimento	20
Vísceras	22
Calidad de garras	23
Discusión	25
Bibliografía	33
Anexos	48
Agradecimientos	50

### **RESUMEN**

Durante la cría de pollos parrilleros surgen problemas relacionados con la salud y la productividad de los animales, actualmente controlados mediante el uso de antibióticos (promotores de crecimiento) y antioxidantes de origen sintético incorporados como suplementos alimenticios. En los últimos años surgió evidencia sobre los peligros de usar estos compuestos en alimentos para consumo humano, causando que varios países actualizaran su legislación para restringir o prohibir su uso y se creen nuevas ramas de investigación para encontrar alternativas menos controversiales. Algunos de los compuestos que han comenzado a estudiarse como potencial alternativa son de origen botánico, los llamados aditivos alimenticios fitógenicos (AAF). Presentan ciertas ventajas: son generalmente biodegradables, pueden poseer más de una propiedad (antioxidante, antibiótico, étc.) y actuar de manera sinérgica. En este estudio se adicionó timol (THY) al alimento base de las aves (efecto antibiótico/antioxidante), una mezcla 1:1 de alfa-tocoferol:palmitato de ascorbilo (TOPA) (efecto antioxidante) y una mezcla 1:1 de ambos (TOTHY) como suplementos naturales para comparar sus efectos con los grupos control (CON), promotor de crecimiento sintético (PROM), antioxidante sintético (BHT) y una mezcla de estos últimos (PROM+BHT). Se asignaron aleatoriamente a cada tratamiento 160 pollos, separados en 4 corrales de 40 individuos cada uno y se registró el peso individual de manera semanal. En función de estos datos se determinó la ganancia de peso, la tasa de crecimiento y la tasa de conversión de alimento a peso vivo. También se registró el consumo de alimento, determinando luego el consumo de alimento semanal (CAS) y total (CAT). A los 35 días se revisaron todas las aves para registrar el estado de lesiones en tarso y garras. Luego de la faena, se pesaron 50 vasos y 50 hígados por tratamiento. Las diferencias significativas se evaluaron mediante análisis de la varianza para muestras repetidas y análisis de la varianza unifactorial. Los resultados evidenciaron que los suplementos dietarios no modifican la ingesta de alimento ni la tasa de conversión de alimento a carne. La ganancia de peso y tasa de crecimiento fueron menores para los grupos control y TOPA respecto a todos los tratamientos suplementados. Los análisis realizados sobre datos de vísceras arrojaron datos dispares entre ambos órganos, mientras que en hígado no se evidenciaron efectos de los suplementos, los bazos pertenecientes a los animales suplementados con timol (THY y TOTHY) fueron significativamente más livianos que los tratamientos CON y TOPA. Estudios más profundos de toxicidad y fisiología son necesarios a los fines de sugerir libremente el empleo comercial de estos productos.

Palabras clave: pollos, timol, suplementos naturales, promotor de crecimiento

### Introducción.-

Es altamente reconocido que una buena alimentación es uno de los pilares fundamentales en el crecimiento y desarrollo de los seres humanos teniendo un impacto directo sobre la calidad de vida de los individuos (Black et al., 2008; Herbold & Frates, 2000). La carne de aves de corral es la segunda más consumida a nivel mundial (Daniel, Cross, Koebnick, & Sinha, 2011; Devine, 2003; Magdelaine, Spiess, & Valceschini, 2008), con 14kg por persona por año en promedio, pero con un máximo de 42kg en Oceanía y 38,6kg en América. Nuestro país posee un gran mercado de productos avícolas, según datos oficiales, tan solo en 2016 se produjeron 1,94 millones de toneladas de carne aviar (Boletín Avícola, Ministerio de Agroindustria de la Nación, 2016), lo que significa unos 45 kg por persona por año, por lo que nuevos aportes para mejorar su producción pueden ciertamente resultar de gran importancia tanto a nivel económico como alimenticio y social. La carne de pollo tiene diversas ventajas con respecto a las carnes rojas tanto a nivel productivo como nutricional. La tasa de conversión de alimento, que mide la cantidad de kilogramos de alimento necesario para producir un kilogramo de peso vivo en los animales, es un buen indicador de los costos productivos; en el mercado aviar tiene un valor aproximado de 2, mientras que en carne de cerdo su valor se incrementa a 3 y para la res alcanza un valor de 7. El menor costo en alimentación permite que la carne de pollo tenga el menor valor de comercialización, siendo la fuente de proteína animal más accesible, de suma importancia para personas de bajos recursos económicos y/o en zonas desfavorecidas donde la incorporación de proteína en la dieta es limitada (Farrel, 2008). También es importante destacar que la producción avícola es la que causa menor impacto en el ambiente, particularmente por su menor utilización de agua (Eshel, Shepon, Makov, & Milo, 2014). Nutricionalmente, posee características que la califica como una opción más adecuada para una dieta balanceada; la pechuga contiene menos de 3 gramos de grasa cada 100 gramos de carne, mientras que las carnes rojas poseen entre 5 y 7 gramos (Farrel, 2008). El consumo de carne aviar se asocia a la reducción de sobrepeso y obesidad, de enfermedades cardiovasculares y de diabetes mellitus tipo 2, además de ser considerada moderadamente protectora o neutral en riesgo de cáncer (Marangoni et al., 2015).

La cría moderna de aves de granja con fines productivos de obtención de carne implica una gran cantidad de procesos tecnológicos a distintas escalas: genéticos (Deeb & Cahaner, 2001, 2002), nutricionales (Baião & Lara, 2005; Lee, Everts, Kappert, et al., 2004; Puvaca et al., 2013), ambientales (Hai, Rong, & Zhang, 2000), que afectan directamente el crecimiento y desarrollo del animal, y la posterior calidad de sus productos derivados. El "pollo parrillero" es una variedad del pollo doméstico (Gallus gallus) que ha resultado de un largo proceso de reproducción selectiva, que modificó durante décadas características importantes de estas aves para mejorar la tasa de crecimiento y el desarrollo de determinados músculos con fines productivos (Hunton, 2006). De acuerdo a Zuidhof (2014), entre 1957 y 2005, el crecimiento del ave se incrementó un 400%, con una consecuente reducción de la tasa de conversión del alimento en un 50%, lo que se traduce en una tasa compuesta anual de crecimiento de un 3,3%. También señala que el crecimiento potencial de los músculos del pecho se incrementó significativamente derivando en una producción 33,5% mayor en el músculo menor y 82% en el músculo mayor, mientras que el de grasa abdominal disminuyó. Estos cambios alcanzados tienen un impacto social directo. Por ejemplo entre 1960 y 2004 en Estados Unidos el consumo per cápita paso de 9,4kg a 39,2kg (USDA, Economic Research Service, 2014) y en nuestro país se ha observado la misma tendencia (Boletín Avícola, Ministerio de Agroindustria de la Nación, 2016).

En la actualidad, la mayoría de los problemas en la producción de aves de granja son causados por una combinación de factores como el manejo, el estrés, la nutrición y la exposición a agentes patógenos. Estos factores se encuentran relacionados entre sí, por ende, alteraciones en alguno de ellos pueden influenciar significativamente otros. El estrés oxidativo es comúnmente definido como un desbalance entre oxidantes y antioxidantes a nivel celular o de individuos (Voljc, Frankic, Levart, Nemec, & Salobir, 2011), y provoca la modificación oxidativa de macromoléculas celulares, muerte celular por apoptosis o necrosis y daño estructural a los tejidos (Lykkesfeldt & Svendsen, 2007). En pollos puede ocurrir como consecuencia de una mala nutrición, altas temperaturas ambientales (Chung, Choi, Chung, & Chee, 2005; Lin, Decuypere, & Buyse, 2006; Sahin, Sahin, Onderci, Gursu, & Issi, 2003) y varias condiciones patológicas, como un incremento en la actividad del sistema inmune (por ejemplo por

infecciones o vacunaciones), hipertensión pulmonar, ascitis y coccidiosis (Georgieva, Koinarski, & Gadjeva, 2006; Papas, 1996). Un contenido alto de peróxidos en el alimento ha sido asociado a diversas enfermedades y problemáticas en el desarrollo de las aves y su presencia puede reducir la eficiencia de la alimentación resultando en rendimientos por debajo de lo óptimo (Cabel, Waldroup, Shermer, & Calabotta, 1988). la oxidación de lípidos provoca pérdidas en las propiedades Por otro lado, organolépticas y nutricionales del alimento (Chow, 1980; Karakaya, Bayrak, & Ulusoy, 2011), como también afecta negativamente la calidad de la carne y la de sus derivados reduciendo el tiempo máximo que pueden ser almacenadas antes de su consumo, o "vida útil en góndola" (Brenes et al., 2008; Cortinas et al., 2005). Otra problemática común, es que las condiciones de humedad y temperatura favorecen el crecimiento de microorganismos que pueden afectar tanto el bienestar como la productividad del animal. Los microorganismos patógenos y metabolitos secundarios de algunos de ellos pueden representar riesgos muy importantes para la salud del animal y para la salud del consumidor.

Como es de esperar, la alimentación es considerada un aspecto fundamental en el crecimiento y el desarrollo del animal (Zubair & Leeson, 1996). Por ejemplo, un ave alimentada adecuadamente durante su vida puede lograr un incremento de hasta 51% en el peso final comparado con un ave malnutrida (Zhao, Muehlbauer, Decuypere, & Grossmann, 2004), por lo que es necesario un control sumamente estricto desde el primer y hasta el último día de cría. Un mal manejo del alimento puede resultar en administración de alimentos oxidados o contaminados con toxinas fúngicas (Frankič, Salobir, & Rezar, 2008), lo que supone un riesgo para salud y bienestar del animal. También se debe considerar que el consumo de alimento puede ser influenciado por una gran variedad de factores entre los que podemos mencionar la apariencia al alimento (como el animal la percibe), temperatura, viscosidad, valor nutritivo, toxicidad de sus componentes, tamaño de las partículas, y hasta de las propias interacciones sociales entre individuos al momento de la ingesta (Blair, 2008). El alimento es un eslabón clave en la cadena de producción, debido a que es un proceso decisivo que impacta en la calidad final del producto. Representa un elevado porcentaje de los costos de producción (aproximadamente el 80%) (Hamra, 2010), y

además puede emplearse como herramienta para resolver o paliar algunos de los problemas asociados durante la cría y posterior procesado de los derivados. La estrategia más utilizada en la industria alimenticia para combatir las consecuencias del deterioro oxidativo es la incorporación de compuestos antioxidantes en la preparación del alimento balanceado como por ej. BHT (butil-hidroxitolueno), BHA (hidroxibutilanisol) o TBHQ (terbutil hidroquinona) (Biswas, Keshri, & Bisht, 2004; Jayathilakan, Sharma, Radhakrishna, & Bawa, 2007). Sin embargo, en los últimos años se ha observado una fuerte tendencia a la búsqueda de compuestos naturales que permitan una alternativa al uso de los antioxidantes sintéticos mencionados (Sheehy et al., 1995; Botsoglou, Florou-Paneri, Christaki, Fletouris, & Spais, 2002; Yanishlieva, Marinova, Gordon, & Raneva, 1999). Esta tendencia ha sido justificada ya que en determinadas situaciones experimentales los compuestos sintéticos mostraron un potencial efecto carcinogénico (Chen, Pearson, & Gray, 1992). Por otro lado, otros compuestos de origen sintético también han sido incluidos en el alimento con el objeto de reducir la carga microbiana y mejorar el desarrollo de los animales. Estos aditivos de tipo antibiótico/antimicrobiano son los llamados "promotores de crecimiento", entre los más empleados podemos mencionar a bambermicina, avilamicina o efrotomicina. En los últimos 45 años la aditivación con este tipo de compuestos ha sido una práctica común, sin embargo, hace más de dos décadas se debate acerca del riesgo del desarrollo de una posible resistencia por parte de organismos patógenos y en especial porque su uso se da a concentraciones subterapéuticas (Diaz-Sanchez, D'Souza, Biswas, & Hanning, 2015). Se utilizan aproximadamente 8,1 toneladas de antibióticos por año en producción animal, (70% para usos no terapéuticos como promotor de crecimiento y prevención de enfermedades) comparada con 1,3 toneladas que se utilizan en medicina humana (Roe & Pillai, 2003). Desde 2006, rige en la Unión Europea una prohibición para el uso de antibióticos como promotores de crecimiento en cría de animales, sin embargo, esa legislación aún no se comparte totalmente en el resto del mundo (particularmente en Argentina están permitidos hasta 2018). Recientemente, se han encontrado evidencias de bacterias resistentes a antibióticos provenientes de la industria avícola (Dhanarani et al., 2009; Furtula et al., 2010; Olonitola, Fahrenfeld, & Pruden, 2015) demostrando la urgente necesidad de restringir su uso o desarrollar nuevas alternativas a estos compuestos promotores del crecimiento.

Por lo expuesto, queda claro la relevancia de buscar alternativas más amigables en la cadena de producción avícola, teniendo como factores principales la búsqueda de mejoras en el bienestar de los animales y la salud humana. Los consumidores han tomado conciencia en los últimos años, pudiéndose observar una tendencia hacia productos cada vez más "naturales", intentando reducir la cantidad de sustancias sintéticas que ingresan al organismo (Holley & Patel, 2005; Min & Ahn, 2005). En este sentido, diferentes hierbas y compuestos derivados han mostrado efectos benéficos ayudando a mantener una buena salud y bienestar de los animales, mejorando su rendimiento y contribuyendo además a reducir consecuencias negativas cuando son expuestos a situaciones de estrés (Borazjanizadeh, Eslami, Bojarpour, Chaji, & Fayazi, 2011; Brenes & Roura, 2010; Windisch, Schedle, Plitzner, & Kroismayr, 2008). Estos compuestos se denominan aditivos alimenticios fitogénicos (AAF) y se definen como compuestos de origen botánico que se incorporan al alimento para mejorar la productividad animal (Athanasiadou, Githiori, & Kyriazakis, 2007; Balunas & Kinghorn, 2005; Kamel, 2001). En comparación con antibióticos sintéticos o químicos inorgánicos, se considera que al ser "naturales" son menos tóxicos y generalmente son biodegradables. Muchos de este tipo de compuestos ya han sido certificados como "Generalmente Reconocidos Como Seguros" (GRAS, por sus siglas en inglés) tanto por la Administración de Drogas y Alimentos (FDA) como la Asociación de Manufactureros de Extractos y Sabores (FEMA) de Estados Unidos, convirtiéndolos en candidatos ideales para su uso a corto plazo en producción avícola (Burdock & Carabin, 2004; Burdock, Carabin, & Griffiths, 2006; Varel, 2002). El término AAF engloba una gran variedad de sustancias con diferente origen, formulación, obtención, descripción química y pureza. Debido a su gran potencial, muchos de estos compuestos ya han sido utilizados en numerosos estudios para poner a prueba sus propiedades y efectos en la industria alimenticia. En cuanto a la conservación durante el almacenamiento, se ha informado que el  $\alpha$ -tocoferol, acetato de  $\alpha$ -tofocerilo, ácido ascórbico, aceite esencial de orégano, extracto de romero y extracto de té verde estabilizan la carne cruda y precocida durante la refrigeración, extendiendo su vida útil (N. A. Botsoglou et al., 2003, 2004; Luna, Lábaque, Zygadlo, & Marin, 2010; Mirshekar, Dastar, & Shabanpour, 2009; Young, Stagsted, Jensen, Karlsson, & Henckel, 2003). Se les atribuyen distintas propiedades como promotoras de la salud y del crecimiento en pollos. Algunas plantas aromáticas como el orégano, el romero y la salvia, y especias como la canela reducen la peroxidación de lípidos en aceites y ácidos grasos (Economou et. al, 1991; Kamel, 1999). Compuestos como timol, eugenol, carvacrol, curcumina y piperina o extractos de orégano y anís en conjunto con cáscara de naranja contribuyen al mejoramiento de la salud intestinal mediante el aumento en la digestibilidad (Kroismayr et al., 2008; Mitsch, Ko, Gabler, Losa, & Zimpernik, 2004) y en el mantenimiento y mejora de sus tejidos (Jamroz et al., 2003; Kreydiyyeh, Usta, Knio, Markossian, & Dagher, 2003; Williams & Losa, 2001). Un grupo muy importante de sustancias consideradas como AAF son los Aceites Esenciales, mezclas complejas de metabolitos secundarios de plantas, consistentes principalmente en terpenos y compuestos volátiles de bajo peso molecular. Entre ellos los aceites esenciales de orégano, anís y cítricos, son capaces de estabilizar el microbioma, reduciendo la producción de toxinas microbianas (Perić, Milošević, & Žikić, 2010; Windisch et al., 2008). Esto reduce la inflamación y, por lo tanto, la producción de proteínas puede ser asignada al crecimiento y no a la producción de moduladores de inmunidad (Steiner, 2006). También son capaces de reducir la incidencia de infecciones subclínicas (Brennan, Skinner, Barnum, & Wilson, 2003; George, Quarles, & Fagerberg, 1982; Snyder & Wostmann, 1987). Aunque el mecanismo preciso de acción de muchos de los AAF mencionados arriba aún no está resuelto, se han propuesto que en general modifican la permeabilidad y/o polaridad de membranas, estimulan el sistema inmune, específicamente la activación de linfocitos, macrófagos y células NK, protegen la mucosa intestinal de la colonización de bacterias patógenas y/o promueven el crecimiento de bacterias beneficiosas como Lactobacilli y Bifidobacteria (Vidanarachchi, Mikkelsen, Sims, Iji, & Choct, 2005; Windisch & Kroismayr, 2007). Los efectos positivos de los AAF están principalmente relacionados a los constituyentes de la planta, utilizados naturalmente como protección ante el ataque de insectos y bacterias, incluyendo fenoles, terpenos, glicósidos, alcaloides, flavonoides y glucosinolatos (Wenk, 2006), llamados comúnmente compuestos activos (por participar activamente en la propiedad funcional del aceite esencial o extracto de la

planta). Cada componente puede tener un diferente mecanismo de acción y, por lo tanto, podrían trabajar sinérgicamente (Russo, Galletti, Bocchini, & Carnacini, 1998; Senatore, 1996). Un ejemplo de esto es la relación entre el palmitato de ascorblio y el α-tocoferol, que al ser utilizados en conjunto se potencian sus propiedades antioxidantes (Bodoira, Torres, Pierantozzi, & Taticchi, 2015; Kancheva et al., 2014). La utilización de extractos vegetales es normalmente más efectiva en comparación con la de hojas, raíces u otras partes de la planta, ya que en los extractos, los compuestos activos se encuentran mucho más concentrados. Los aceites esenciales o sus componentes pueden ser incluidos en la dieta generando "alimentos funcionales" ya que pueden adicionar a un alimento simple propiedades beneficiosas a la salud de quien las consume, aunque no poseen propiedades nutritivas en sí mismos, y no corresponden a las oficialmente reconocidas "vitaminas" (Burdock et al., 2006; Dipplock, A.; Agget, P.; Ashwell, M.; Bornet, F.; Fern, E.; Robertfroid, 1999). Si bien los aceites esenciales poseen una alta concentración de compuestos activos, el aislamiento de sus compuestos permite una identificación de sus efectos particulares observados y una reducción en el volumen de aditivo utilizado, facilitando su uso en alimentación. Por ejemplo, el timol es uno de los componentes principales del aceite esencial de orégano y de tomillo, entre otras hierbas mediterráneas, ha sido catalogado como GRAS y se encuentra disponible comercialmente. El timol pude resultar de gran interés en la producción avícola debido a sus importantes propiedades antioxidantes (Luna et al., 2010; Ündeğer, Başaran, Degen, & Başaran, 2009), antifúngicas (Ahmad, Khan, Yousuf, Khan, & Manzoor, 2010) y antimicrobianas (Dorman & Deans, 2000; Palaniappan & Holley, 2010; Zarrini, Delgosha, Moghaddam, & Shahverdi, 2010). Se han publicado estudios que indican potenciales efectos beneficiosos del timol en la ganancia de peso y en la conversión de alimento (Hashemipour, Khaksar, Rubio, Veldkamp, & van Krimpen, 2016; Tiihonen et al., 2010). Esto sugiere beneficios en términos de producción animal y por lo tanto, su aplicación en la dieta representaría un método práctico y económicamente viable de mejorar el rendimiento y potencialmente también la calidad de vida de las aves, además de la calidad de sus productos.

El presente estudio propone evaluar los efectos del suplemento de la dieta de pollos parrilleros con productos naturales con propiedades antioxidantes y antimicrobianas durante el crecimiento de las aves como posibles alternativas naturales a los aditivos sintéticos antioxidantes y antibióticos cuyo empleo ha sido objeto de controversia en los últimos años. De esta manera se busca una mejora en el rendimiento de los animales y sus productos, con una opción viable, de origen natural y económicamente viable para los productores. El empleo de este tipo de compuestos incluso puede llevar a mejoras en el bienestar animal ya que una mejora en la funcionalidad biológica de las aves lleva a un mejor estado de salud, mayor energía para realizar comportamientos y en particular, debido a que el timol ha sido asociado a cambios positivos en la actividad GABAérgica (García, Bujons, Vale, & Suñol, 2006; García, Vendrell, Galofré, & Suñol, 2008) y en la expresión de comportamiento de miedo en situaciones de estrés agudo (Lábaque, Kembro, Luna, & Marin, 2013) podría minimizar los efectos de estresores inevitables durante la cría. Considerando el marco teórico presentado, se plantea la hipótesis de que la adición de suplementos naturales/timol y alfa tocoferol-palmitato de ascorbilo en el alimento del pollo parrillero modifica los parámetros de crecimiento y bienestar animal del ave.

### **Objetivo General:**

Evaluar integralmente los efectos de la suplementación dietaria con productos naturales bioactivos en pollos parrilleros destinados a la producción de carne. El objetivo final es contribuir al desarrollo de nuevas opciones de suplementos alimentarios que permitan mejorar la funcionalidad biológica de las aves llevando a mejoras en el bienestar de las aves durante la cría, en su productividad y en la calidad de productos.

### **Objetivos Específicos:**

- 1) Evaluar si el suplemento dietario con timol, TOPA (alfa tocoferol:palmitato de ascorbilo- 1:1) o la combinación timol-TOPA afecta el consumo de alimento, la ganancia de peso, la tasa de crecimiento y la eficiencia de conversión de alimento, en relación con los tratamientos control (CON (control), PROM (promotor), BHT, y PROM+BHT).
- 2) Examinar si el tratamiento dietario con los compuestos mencionados puede afectar indicadores generales de toxicidad o inmunidad alterada (peso de hígado y bazo de animales suplementados).
- 3) Determinar si los compuestos suplementados inducen cambios en el estado de lesiones que se observan en tarso (hock burn) y planta de las garras (dermatitis) y que sugieren un estado desmejorado de la "cama" (mezcla del guano con el sustrato de los corrales) como consecuencia de las deposiciones de las aves.

### Materiales y Métodos.-

Para el desarrollo de este trabajo se emplearon aves de la especie *Gallus gallus* (pollos domésticos de la cepa productora de carne de la variedad Cobb-500) y materia prima para la preparación del alimento balanceado comercial proporcionados por la empresa INDACOR S.A. La cría de las aves se realizó desde el primer día de edad en las instalaciones de la empresa donde se empleó un procedimiento de manejo de tipo granja abierta empleado rutinariamente para las aves de estas características (Marin & Jones, 1999, 2000). Para la absorción de humedad de las deposiciones de las aves se empleó cáscara de arroz que fue mantenido durante los 42 días de estudio.

<u>Tratamientos y alimento</u>: Este trabajo busca evaluar el efecto de la incorporación de compuestos bioactivos con propiedades específicas: a) Timol: con actividad antioxidante y antimicrobiana y por lo tanto con potencial efecto como promotor del crecimiento; b) TOPA: producto comercial GRINDOX 497, compuesto por una combinación molar 1:1 de alfa-tocoferol y palmitato de ascorbilo con actividad antioxidante y c) Timol:TOPA en una mezcla 1:1 de ambos. Con este objetivo se utilizaron cuatro tratamientos dietarios como controles, control sin suplemento (tratamiento 1), control con bambermicina como control positivo del efecto promotor del crecimiento (ampliamente empleado a nivel comercial), BHT como control positivo antioxidante y Promotor+BHT (para considerar su posible interacción). En base a las dosis de timol propuestas por Luna (2010) y a experimentos previos, se determinaron concentraciones equimolares de los compuestos añadidos. De este modo el diseño experimental incluyó 7 tratamientos dietarios, diferenciados por los compuestos incorporados al alimento base a saber: 1. CON (control, sin suplemento), 2. PROM (control + 20mg de Bambermicina/kg alimento balanceado), 3. BHT (CON + 1,33 mmoles de BHT/kg de alimento balanceado), 4. PROM+BHT (CON + 20mg de Bambermicina + 1,33 mmoles de BHT/kg de alimento balanceado), 5. TOPA (CON + 0,665 mmoles de alfa-tocoferol + 0,665 mmoles de palmitato de ascorbilo/kg alimento balanceado), 6. THY (CON + 1,33 mmoles de timol/kg de alimento balanceado), 7. TOTHY (CON + 0,665 mmoles THY + 0,3325 mmoles de alfa-tocoferol + 0,3325 mmoles de palmitato de ascorbilo/kg alimento balanceado). El alimento para cada tratamiento fue preparado en la planta de fabricación de alimento balanceado de la empresa INDACOR S.A.. Para incorporar los suplementos, se prepararon diluciones de éstos en aceite de soja crudo (2L) que habitualmente se emplea para la preparación del balanceado comercial. Dicha solución fue incorporada en el alimento mediante el uso de un pulverizador de tipo "spray" que incorporaba la solución en el interior de la mezcladora sobre el alimento en polvo a lo largo de 5 min para asegurar la distribución homogénea del suplemento. El pollo parrillero consume alimentos con diferentes características durante su ciclo de vida, que le permiten una mejor digestión y absorción de los nutrientes de acuerdo a su estado de desarrollo, por lo tanto, para poder incorporar los suplementos a la dieta desde el primero y hasta los 42 días de edad, fue necesario preparar tres tipos de alimentos balanceados por tratamiento (VER ANEXO 1: COMPOSICIÓN DE ALIMENTOS): Pre-Iniciador (de 0 a 11 días de edad), Iniciador (de 12 a 27 días de edad) y Terminador (de 28 a 42 días de edad).

Asignación de las aves a cada tratamiento: Luego del arribo de los pollitos recién nacidos a la granja (menos de 1 día de edad), las aves fueron pesadas y un total de 1120 machos con pesos similares (43,35 ± 1,00) gramos fueron asignados aleatoriamente a 1 de 28 corrales de 2,4m x 1,15m x 1,20m (largo x ancho x alto) (40 animales por corral). Las aves fueron individualizadas mediante la aplicación de una banda alar. Todas las aves de cada corral fueron asignadas al azar a 1 de los 7 tratamientos quedando de este modo un total de 160 pollitos por tratamiento distribuidos en 4 corrales (réplicas) experimentales (Figura 1). A los 28 días de edad (cuando ya prácticamente no se observan mortalidades en la cría) el número de machos de cada corral fue reducido aleatoriamente a 32 individuos. Este número de aves por corral supone una densidad final de 11,6 aves/m2, lo cual se ajusta a la densidad de hasta 12 animales/m2 sugerida en las guías de manejo del pollo de engorde (Cobb, 2013).

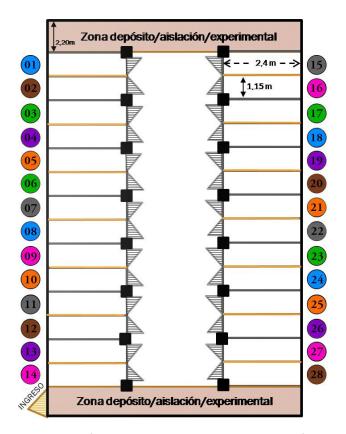


Figura 1: Esquema de distribución de corrales. El color de cada número de corral indica el tratamiento asignado. CON (celeste), PROM (marrón), BHT (rosa) PROM+BHT (violeta), THY (verde), TOPA (naranja) y TOTHY (gris).

Desde el inicio del estudio todas las aves fueron pesadas semanalmente y hasta los 42 días de edad. En función del registro del peso se determinó la ganancia de peso semanal, la tasa de crecimiento como el peso final relativo al inicial para cada individuo y la eficiencia de conversión alimento-carne (gramos de alimento por gramo de peso vivo) como el cociente entre el alimento neto consumido durante un período de tiempo (estimado por corral) y la ganancia de peso de ese mismo período de tiempo (determinado por individuo). Para el control del consumo de alimento se fraccionó el balanceado correspondiente a cada corral en bolsas de 20 kg. El alimento se administró *ad libitum*, registrando semanalmente el peso del alimento incorporado a cada corral. En función de ello se determinó el consumo de alimento semanal y el total acumulado al final del estudio (CAS y CAT, respectivamente). A los 35 días de vida se realizó una inspección manual de todos los individuos para determinar visualmente la calidad de garras. Según el estado de lesiones de tarso (hock burn) y planta (dermatitis) respectivamente, se clasificaron en una escala (0-4) (VER ANEXO 2:

ESTADO DE LESIONES) que determina los 3 estados principales (A: Sin lesión (0), B: Lesiones mínimas (1-2), C: Lesiones de importancia (3-4)), la cual es análoga a la empleada comercialmente según el grado de deterioro (Welfare Quality ®, 2009). Se llevó un registro diario de la mortalidad por corral.

A los 43 días de edad, los animales fueron trasladados al frigorífico de INDACOR S.A. (Juárez Celman, Córdoba) para su sacrificio. Se extrajeron 50 hígados y 50 bazos por tratamiento inmediatamente luego de la faena de los animales para determinar su peso.

A los fines de evaluar el timol y el TOPA como promotores del crecimiento se compararon los resultados obtenidos en el grupo THY, TOPA y TOTHY (5-7) con respecto a los grupos CON, PROM, BHT Y PROM+BHT (1-4).

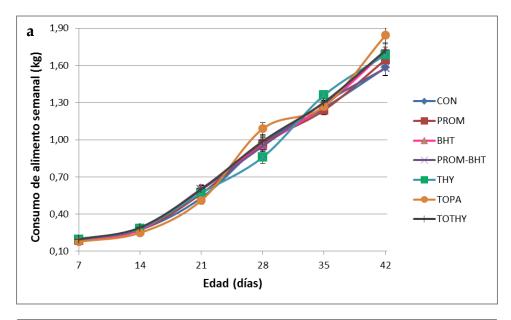
### Análisis Estadísticos

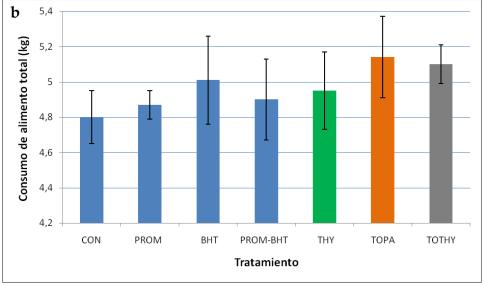
Los datos obtenidos semanalmente de peso, ganancia de peso, tasa de crecimiento, consumo de alimento y eficiencia de conversión, fueron analizados estadísticamente con el programa INFOSTAT mediante un modelo lineal general mixto aleatorio con el corral y la edad como factores aleatorios, por lo tanto los animales dentro de un corral se toman como unidades no dependientes. La calidad de garras y el peso de vísceras se analizaron mediante un ANOVA de un factor (Alimento (1x7)). La prueba Fisher LSD fue empleada para comparación de medias a *posteriori*. En todos los casos,  $P \le 0.05$  fue considerado indicador de diferencias significativas.

### Resultados.-

### Consumo de alimento.-

El consumo de alimento de los animales de los diferentes tratamientos dietarios se muestra en las figuras 2a y 2b. No se encontraron diferencias significativas entre tratamientos, tanto para el consumo de alimento semanal (CAS) (P>0,05), como para el consumo total (CAT) (P>0,05).

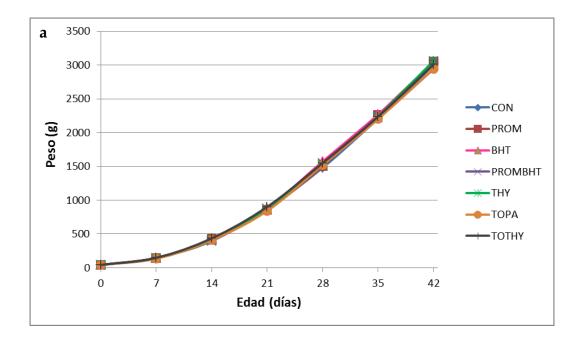




**Figura 2: (a)** Alimento promedio consumido semanalmente (media  $\pm$  E.E.) por individuo. Distintos colores representan los diferentes tratamientos. **(b)** Alimento total consumido por individuo (media  $\pm$  E.E.) en todo el período experimental. Se distinguen los tratamientos control (azules) de los suplementados (verde, naranja y gris).

### Ganancia de peso.-

La ganancia de peso de los animales de los diferentes tratamientos dietarios se muestran en la figuras 3a y 3b. El modelo lineal general mixto mostró una interacción significativa entre los factores tratamiento y la edad de los animales (P<0,001). El análisis a posteriori mostró que respecto al grupo CONTROL, todos los tratamientos dietarios presentaron un incremento significativo del peso final alcanzado a los 42 días excepto el grupo TOPA. En este sentido, el peso final medio observado para los grupos PROM, BHT, PROMBHT, THY Y TOTHY (3047,9 g, 3009,4 g, 2999,9 g, 3062,1 g y 3009,2 g respectivamente) fue en promedio un 2,9% superior al grupo control (2940,5 g). El grupo suplementado con TOPA (2941,9 g) no presentó diferencias significativas respecto al grupo control y resultó significativamente menor que el resto de los grupos suplementados (P<0,05).



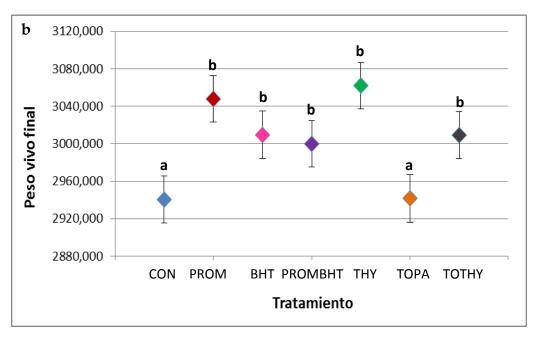


Figura 3: Ganancia de peso en función de la edad de los animales (media ± E.E.). a) Durante todo el tratamiento. b) Día 42. Distintos colores representan los diferentes tratamientos. Letras distintas entre las columnas indican diferencias significativas (P≤0,05)

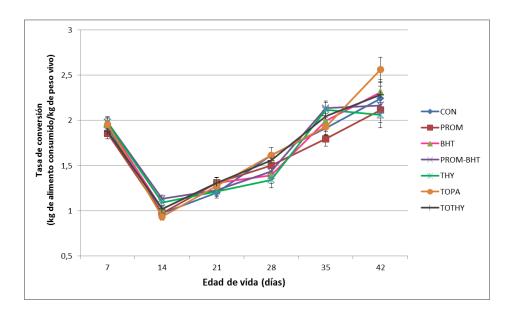
### Tasa de crecimiento.-

Dado que el peso inicial fue el mismo en todos los tratamientos, la tasa de crecimiento presentó el mismo comportamiento que la ganancia de peso. El análisis mostró una interacción significativa entre los tratamientos y la edad de los animales. El análisis a posteriori mostró un resultado similar al obtenido en ganancia de peso, presentando todos los grupos suplementados excepto TOPA, una tasa de crecimiento significativamente superior al grupo control ( $P \le 0,05$ ).

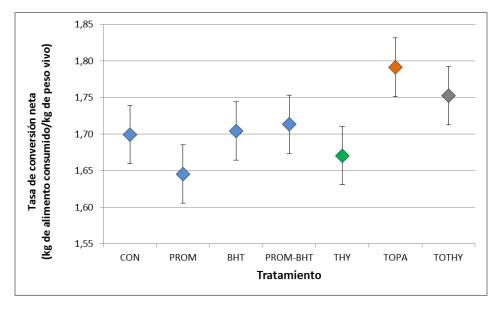
### Tasa de conversión de alimento.-

La tasa de conversión de los animales de los diferentes tratamientos dietarios se muestra en la figura 4. El análisis estadístico no mostró diferencias significativas entre los diferentes grupos suplementados (P=0,270). Como puede apreciarse en la figura 4, los valores variaron en sus mediciones semanales de igual manera en los diferentes grupos, registrándose los menores valores el día 14 (1,0 ± 0,1) y los mayores el día 42

 $(2,3\pm0,2)$ . En promedio, la tasa de conversión neta obtenido fue de 1,71 kg de alimento por kg de peso vivo (Fig. 5).



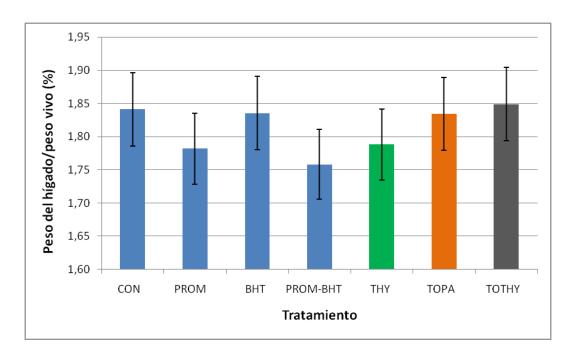
**Figura 4:** Tasa de conversión (media ± E.E.) para los 7, 14, 21, 28, 35 y 42 días de edad. Distintos colores representan los diferentes tratamientos.



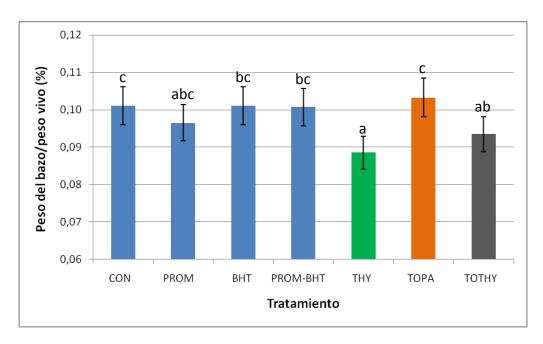
**Figura 5:** Tasa de conversión neta (media  $\pm$  E.E.) para el tiempo total del estudio. Se distinguen los tratamientos control (barras azules) de los suplementados (verde, naranja y gris).

### Vísceras.-

El efecto de los suplementos dietarios sobre el peso de hígado y bazo se muestra en las figuras 6 y 7 respectivamente, expresados como porcentajes del peso vivo final de cada tratamiento para facilitar la comparación. Mientras no se observaron efectos significativos del suplemento dietario sobre el peso de hígados provenientes de los animales suplementados (*P*>0,05), el análisis sobre el peso relativo del bazo mostró que los suplementos dietarios influencian su desarrollo (*P*=0,024). Específicamente, los grupos CON y TOPA presentaron bazos significativamente más pesados que los grupos suplementados con timol (THY y TOTHY), mientras que los grupos PROM, BHT, y PROMBHT mostraron valores intermedios.



**Figura 6:** Peso relativo del hígado con respecto al peso vivo final, expresado como porcentaje (media ± E.E.). Se distinguen los tratamientos control (barras azules) de los suplementados con aceites naturales (verde, naranja y gris).



**Figura 7:** Peso relativo del bazo con respecto al peso vivo final, expresado como porcentaje (media  $\pm$  E.E.). Se distinguen los tratamientos control (barras azules) de los suplementados con aceites naturales (verde, naranja y gris). Letras distintas entre las columnas indican diferencias significativas ( $P \le 0,05$ )

### Calidad de garras.-

El estado en lesiones de tarso (hock burn) y planta (dermatitis) se muestran en la Tabla 1. En las condiciones en las que se realizó este estudio, no se vieron efectos significativos en los diferentes tratamientos dietarios tanto para hock burn (P=0,59) como para dermatitis (P=0,49).

**Tabla 1:** Estado promedio de lesiones en tarso (hock burn) y planta (dermatitis) de garra (media  $\pm$  E.E.).

Tratamiento	Estado de lesión	
_	Hock Burn	Dermatitis
CON	1,05 ± 0,28	1,87 ± 0,14
PROM	1,17 ± 0,28	2,25 ± 0,14
BHT	0,63 ± 0,28	1,40 ± 0,14
PROMBHT	0,47 ± 0,28	1,52 ± 0,14
THY	0,86 ± 0,28	1,72 ± 0,14
TOPA	0,96 ± 0,28	1,79 ± 0,14
TOTHY	$0,75 \pm 0,28$	1,89 ± 0,14

### Discusión.-

En nuestro estudio, pollos parrilleros de la Cepa Cobb-500 fueron evaluados empleando PROM, BHT, BHT+PROM, THY, TOTHY, TOPA y CON como tratamientos experimentales. En todos los grupos se observó un consumo de alimento similar. En la bibliografía se encuentran estudios donde se evidencia una reducción del consumo (Brenes & Roura, 2010; Windisch et al., 2008) así como otros donde se ve incrementado (Al-Kassie, 2009), sin embargo los resultados obtenidos en este experimento coinciden con los de Khattak (2014) y Amad (2011) donde no se encuentran diferencias entre los grupos tratados. De acuerdo a recientes estudios, la inclusión de compuestos fitogénicos tiene el potencial de modificar la ingesta de alimento por efectos en la palatabilidad de la dieta, ya sea debido a su capacidad de alterar algunas propiedades del alimento (olor, sabor, textura) o de conservarlas por más tiempo gracias a sus efectos antioxidantes, dando como resultado un aumento o disminución de la misma (C. Franz & Windisch, 2010; ; Kroismay et al., 2006; Solá-Orio, Roura, & Torrallardona, 2011; Yang, Chowdhury, Huo, & Gong, 2015). La ausencia de diferencias significativas entre los tratamientos permite sugerir que los compuestos administrados, al menos a las dosis suplementadas, no cambian significativamente la palatabilidad del alimento ya que no afectan el volumen de ingesta del balanceado. Sin embargo, está claro que para confirmar dicha hipótesis, sería necesaria experimentación adicional mediante pruebas de preferencia alimenticia. La ausencia de diferencias en el consumo de alimentos suplementados con los compuestos naturales y los sintéticos (que se emplean en la industria avícola en la actualidad), sustenta la propuesta que los productos naturales evaluados podrían emplearse como una alternativa viable para el mercado de consumidores que busca evitar el consumo de sustancias sintéticas.

Cuando evaluamos la ganancia de peso corporal de las aves durante su crecimiento, se observó que el peso en los distintos tratamientos fue cambiando a lo largo de la cría de los animales. En las primeras 5 semanas, las ganancias de peso observadas fueron similares entre los tratamientos, sin embargo, al finalizar el estudio (6 semanas de edad) todos los tratamientos a excepción del grupo tratado con TOPA mostraron mayores pesos corporales con respecto al grupo control sin suplementar. Como era de esperar, de modo similar a los resultados observados en la ganancia de peso corporal, la tasa de crecimiento mostró el mismo patrón de resultados. Los grupos PROM, BHT, BHT+PROM, THY y TOTHY obtuvieron valores en su tasa de crecimiento significativamente mayores a los grupos CON y TOPA. El efecto de las diferencias en una edad avanzada puede deberse a una influencia positiva de los suplementos con actividad antimicrobiana (lo cual excluye al TOPA) sobre las condiciones sanitarias y en consecuencia del sistema digestivo del pollo (por ej. pH y la digestibilidad de aminoácidos), las cuales sufren modificaciones a medida que los animales crecen (Rynsburger, 2009), observándose además que la tasa de conversión es más alta en las primeras semanas de vida. A partir de los 28 días de edad se empezó a evidenciar una tendencia numérica a un incremento en el peso corporal de los animales tratados con los diferentes compuestos y a las 6 semanas de edad (último pesaje antes de la faena) los grupos PROM, BHT, BHT+PROM, THY y TOTHY mostraron valores significativamente mayores en su peso final con respecto a los grupos CON y TOPA. Los individuos de los cinco tratamientos que mostraron el mayor peso corporal fueron en promedio, un 2,9% más pesados que CON y TOPA. Estos resultados son similares a los observados por Bozkurt (2009), quien encontró que aves alimentadas con adición de antibióticos sintéticos o aceite esencial de orégano resultan en una ganancia de peso significativamente mayor, remarcando el potencial de los suplementos naturales como alternativa a los sintéticos. Se ha observado que la administración de compuestos activos de aceites esenciales en las dietas de aves, como por ejemplo timol, eugenol y piperina indujeron un aumento en la actividad de las enzimas del tracto digestivo como tripsina, lipasa, amilasa y maltasa (Jang, Ko, Kang, & Lee, 2007; Lee, Everts, & Beynen, 2004) y también puede observarse una mejoría en las enzimas del páncreas, el flujo de bilis y la producción de mucosa intestinal (Engberg, Hedemann, Leser, & Jensen, 2000; Jamroz, Wiliczkiewicz,

Wertelecki, Orda, & Skorupi, 2005; Platel and Srinivasan, 2004). Este último efecto podría influenciar la adhesión de patógenos y ayudar a estabilizar el equilibrio microbiano en los intestinos del pollo (Jamroz, Wertelecki, Houszka, & Kamel, 2006; Jang et al., 2002; Lee et al., 2003). Se ha propuesto además que ese tipo de compuestos naturales contribuyen a la reducción de la viscosidad del quimo y al incremento tanto en la digestibilidad ileal aparente (IAD) como en la retención aparente total del tracto (TTAR) de nutrientes (Hashemipour et al., 2016). Todas estas características que favorecen el funcionamiento del sistema digestivo y el aprovechamiento de los nutrientes, contribuyen al crecimiento del ave y suelen además estar relacionadas con una mejoría en la conversión de alimento a peso vivo. En nuestro caso sólo observamos diferencias significativas en el crecimiento de las aves. La ausencia de diferencias en la conversión y/o en el consumo de alimento, podría deberse a que estas variables fueron determinadas registrando el consumo neto de alimento a nivel de corral y no individualmente por ave, y por lo tanto, los grados de libertad se ven considerablemente reducidos lo que dificulta la probabilidad de encontrar diferencias estadísticas entre los grupos. Los compuestos naturales suplementados podrían además afectar el crecimiento de las aves mejorando su salud. Por ejemplo, el timol se considera muy efectivo contra organismos productores de enfermedades como Salmonella y Candida albicans (Ayachi et al., 2009; Cosentino et al., 1999; Koscova, J., Nemcova, R., Gancarcikova, S., Jonecova, Z., Scirankova, L., Bomba & Buleca, 2006). También se ha observado que reduce la presencia de bacterias como E. coli y C. perfringens al mismo tiempo que estimula la presencia de microorganismos favorables a la salud como Lactobacilli, que pueden cumplir la función de probióticos reduciendo así la carga de patógenos en los intestinos por exclusión competitiva (Hashemipour et al., 2016). La reducción en la cantidad de microorganismos tiene una doble función, por un lado mejora las condiciones sanitarias y asegura la salud del animal, facilitando la explotación de su capacidad de crecimiento, y por el otro minimiza la competencia por los nutrientes entre las aves y las bacterias que habitan en su tracto digestivo. Lee (2003) sugiere que la eficacia de los suplementos con efecto antibiótico puede resultar disminuida o incluso anulada cuando los animales son criados en condiciones óptimas, ya que no responderían de la misma manera que aquellos criados en ambientes con desafíos sanitarios, donde sus

efectos serían más relevantes. El estrés es de este modo otro factor a considerar en la cría intensiva ya que puede afectar el crecimiento normal de las aves. Bedanova (2007) y Young (2003) observaron que en dietas conteniendo aceite esencial de orégano, timol o una mezcla de α-tocoferol y ácido ascórbico, había una influencia positiva en la reducción del estrés, lo que resultaría en un mayor desarrollo para los animales suplementados. Sin embargo, la respuesta de los animales a los suplementos dietarios podría estar afectada por otros factores como por ejemplo el tipo de dieta, la edad, la higiene, factores ambientales, y la calidad de los compuestos suplementados (N. a Botsoglou et al., 2002; Jang et al., 2002; Ocak et al., 2008). En nuestro estudio se observa un incremento significativo en el peso final (42 días de edad) en los tratamientos PROM, BHT, BHT+PROM, THY y TOTHY, con un promedio de 3026g, a comparación de CON y TOPA con 2941g, es decir, un promedio de85g de peso vivo por animal. Extrapolando los resultados, solamente en la granja en la que se llevó a cabo el estudio se crían alrededor de 75.000 pollos por ciclo, lo que resultaría en una diferencia de 6.375 kilogramos extra de carne por ciclo. Además, si consideramos que el peso del tratamiento CON es el peso final de faena esperado, los tratamientos suplementados alcanzarían este peso alrededor de 1,2 días antes, lo cual representaría un ahorro de alrededor de 13,5 toneladas de alimento sólo para esa granja lo que resalta la relevancia práctica, económica e incluso ambiental de mantener una suplementación dietaria con compuestos de tipo antioxidantes/antimicrobianos. Si además esta suplementación se aplicara con compuestos naturales y seguros, se podrían brindar múltiples beneficios a los productores.

En el análisis de los datos obtenidos sobre la tasa de conversión observamos que ningún tratamiento demostró mejoras en la conversión del alimento a peso vivo. Este trabajo difiere de estudios informados por Hashemipour (2016) y Amad (2011) donde muestran que la tasa de conversión presenta mejoras en los grupos tratados con una mezcla 1:1 de timol+carvacrol o una mezcla de aceites esenciales cuyos compuestos activos principales son timol y anetol, pero se condice con la ganancia de peso que obtienen. En coherencia con nuestros resultados, Hoffman (2010) observa semejanzas entre la conversión de las distintas dietas evaluadas al igual que Lee (2003). Éste último autor, adjudica la falta de diferencias a las variaciones en la

composición de la dieta y las condiciones ambientales de los estudios, de esta manera afirma que pollos parrilleros criados en un lugar limpio, bien alimentados, con ingredientes altamente digeribles, pueden conducir a la no visualización de los potenciales efectos de los suplementos dietarios ya que las aves están en un ambiente que podría considerarse "óptimo" a los efectos productivos. Por otro lado, podría ser posible explicar la similitud en los valores como consecuencia de la dificultad para el registro de las variables que se toman para el cálculo del valor de la tasa. Por ej., uno de los inconvenientes (o errores) asociados a su determinación es que el alimento colocado en cada comedero no es consumido en su totalidad, ya que las aves, al alimentarse, producen "desperdicios" debido a que parte del alimento queda esparcido en la cama (Skinner-Noble, D. O., & Teeter, 2004; Warren, 1953). Además, como afirman Leenstra & Pit (1987), realizar correctamente las mediciones de toda la población es prácticamente imposible, por lo que suele realizarse en una fracción de la población. En nuestro estudio, el cálculo se basó en los datos de toda la población experimental, pero mientras la ganancia de peso se registró individualmente, para el consumo de alimento se utilizó un valor promedio obtenido para cada corral, lo que reduce la potencia para el análisis estadístico. Un aumento en el número de aves podría contribuir a reducir el error de las comparaciones, aunque en futuros experimentos no se descarta un nuevo diseño experimental que permita obtener datos más precisos. Una forma es la planteada por (Pym & Nicholls, 1979; Pym et al., 1984), quienes afirman que con una suficiente cantidad de corrales es posible medir la tasa de conversión de cada individuo, aunque demandaría un esfuerzo y espacio excesivamente grandes para una población relativamente numerosa. Siguiendo la idea pero sin recurrir al extremo de construir corrales individuales (que además incluiría otro tipo de problemas relacionados al bienestar animal, aislación social, reducción de espacio disponible, representatividad de las condiciones reales, etc.), sería posible mejorar la toma de datos y el análisis posterior mediante la reducción en la cantidad de animales por habitáculo, buscando un equilibrio entre las posibilidades prácticas para la realización del experimento y la máxima precisión posible de las mediciones (maximización de la potencia estadística).

Con los datos obtenidos post mortem, pudimos observar que las dietas pueden influenciar de manera diferente a los órganos internos de las aves; mientras el peso del hígado no presentó cambios significativos según el tratamiento (P=0,24), el bazo mostró un incremento en su peso dependiendo del suplemento incorporado en la dieta (P=0,024). El hígado es un órgano vital con diversas funciones metabólicas, digestivas y productivas, entre ellas eliminar toxinas que circulan por la sangre del animal. Un aumento en la actividad hepática, reflejado en un aumento del peso del hígado, es considerado un indicador del grado de toxicidad en el organismo pudiendo además ser síntoma de enfermedades (Mcmullin, 2004). Autores que utilizan productos fitogénicos como Hernandez (2004) (con aceite esencial de orégano, canela y pimienta y extracto de salvia, tomillo y romero), Cabuk (2006) (con una mezcla de aceites esenciales que incluye el de orégano), Sarica (2005) (con polvo comercial de tomillo y polvo comercial de ajo) y Demir (2008) (con polvo comercial de orégano, de ajo, de tomillo y otros con alto contenido de fructo-oligosacáridos y componentes de Ovillaia saponaria) no observaron diferencias significativas en el peso dehígados de pollos con dietas suplementadas respecto a un control sin suplemento. Coincidentes con los resultados obtenidos en este estudio, Lee (2003) y Lee (2004) no encuentran diferencias significativas entre tratamientos suplementados y el control al utilizar timol, cinamaldehído o una mezcla comercial de aceites esenciales que incluye timol entre sus compuestos activos. Por lo tanto, los resultados encontrados en nuestro trabajo se consideran positivos, ya que indicaría que las dosis de compuestos activos utilizadas no inducen un perjuicio superficial aparente en el funcionamiento normal hepático. Considerando el otro órgano estudiado, el bazo tiene un importante rol en el sistema inmune, con actividad linfoide, su tamaño está muy relacionado con la respuesta del ave a diferentes patógenos que afecten su organismo. Un bazo que padece hipertrofia puede indicar infección, presentar inflamación (aumento de peso) o ser signo de diversas enfermedades entre las que se puede mencionar la salmonelosis (de gran importancia sanitaria e industrial) (Hashemipour, Kermanshahi, Golian, & Veldkamp, 2013; McMullin, 2004). Mejorar el sistema inmune en los animales de criadero es primordial y se ha propuesto que los aceites esenciales pueden contribuir como estimulantes del sistema inmune (Acamovic & Brooker, 2005). Un animal enfermo puede ocasionar contagios, resultando en alertas para la salud humana,

reduce su consumo y conversión de alimento y en consecuencia pérdidas en la productividad. En nuestro estudio, el grupo suplementado con timol fue el único que presentó un peso del bazo reducido con respecto a todos los demás tratamientos (incluso el grupo TOTHY). Esto podría atribuirse a las mencionadas propiedades antimicrobianas que presenta el timol. Los resultados podrían sugerir que se requiere una concentración mínima de suplemento ya que los efectos se hicieron evidentes cuando el timol fue incorporado a dosis de 200 mg/kg en el grupo timol, y no se observaron cuando fue incorporado en mezclas 1:1 con TOPA (sólo 100 mg/kg de timol). Si bien el hecho de encontrar un bazo menos pesado en el grupo suplementado con THY no implica directamente un mejor estado inmunológico per se, pone en evidencia la necesidad de continuar con estudios en esta línea para determinar cuáles son las posibles causas y consecuencias de ello. Para lo cual también debería tenerse en cuenta la posibilidad de que el aumento en las concentraciones de timol suplementado puede llevar a un incremento en el timol defecado sin sufrir alteraciones en su estructura molecular (que pudieren alterar su actividad antimicrobiana), lo cual podría recaer en un beneficio en las condiciones sanitarias en el ambiente de inmediato contacto con los animales. En codornices se han realizado estudios con mayores dosis (Fernandez et al., 2017a) sin que esto genere un compromiso en las funciones de órganos clave como el hígado (Fernandez et al., 2016), mostrando efectos protectivos sobre el alimento, reflejado en una mejor conservación de la composición de ácidos grasos del balanceado suplementado respecto al control (Fernandez et al., 2017b). Con respecto a las condiciones sanitarias, y como propuesta para un estudio posterior, sería de interés realizar un análisis microbiológico de las camas y/o heces, que son la principal fuente de agentes patógenos a los que está expuesto el animal y pueden ocasionar problemas de salud que impactan directamente tanto en la productividad del ave como en los productos finales. Uno de esos problemas son las lesiones en las garras, que disminuyen el valor comercial del producto y perjudica el bienestar del ave. En nuestro trabajo, se realizó una primera exploración del estado de garras y tarsos de las aves. Se observó una gran incidencia de lesiones, 53% de las aves presentaban algún daño tisular en el tarso y el 85% en la planta. No se encontró una correlación entre los diferentes suplementos dietarios, las lesiones que presentaban los animales en tarsos y el grado de dermatitis en todos los

casos presentaron un estado B, es decir, presencia de lesiones de grado mínimo. Estos resultados sugieren que los compuestos naturales utilizados no modifican significativamente las condiciones de la cama relacionadas a las lesiones dérmicas en garra.

Por último, los resultados sugieren que en las condiciones en las que se realizó el estudio, los suplementos naturales propuestos no poseen características organolépticas negativas para el ave ya que no se observaron cambios en el consumo de alimento. En resumen, si además de los resultados positivos observados en el presente estudio consideramos que el timol: a) ha sido declarado como "Generally recognized as safe" por la Food and Drug Administration (Burdock et al., 2006), lo cual implica que su uso en la industria alimenticia es seguro; b) que hay estudios que demuestran que el timol no presenta neurotoxicidad o incluso tiene actividad neuroprotectora o antiestrés (Delgado-Marin et al., 2017; García et al., 2006; Lábaque et al., 2013), a contramano del BHT cuyo uso es controvertido, con restricciones o incluso prohibiciones de uso en numerosos países, c) ha mostrado ser un antioxidante eficiente retrasando el deterioro de la carne, la calidad y tipo de ácidos grasos e incluso, la tasa de nacimiento de las aves (Fernandez et al., 2017; Luna, Dambolena, Zygadlo, Marin, & Labaque, 2012; Luna et al., 2010)) y c) el timol es un producto de alta disponibilidad comercial y a un precio comparable al BHT, podemos concluir que el empleo de timol como suplemento dietario en la dieta de pollos parrilleros en reemplazo del antioxidante BHT o de los promotores de crecimiento de tipo antibióticos podría ser una opción de tipo "natural" para ser implementada en la industria avícola en la búsqueda de mejoras no sólo en el crecimiento de las aves sino además, en la calidad de sus productos.

### Bibliografía.-

Acamovic, T., & Brooker, J. D. (2005). Biochemistry of plant secondary metabolites and their effects in animals. *The Proceedings of the Nutrition Society*, *64*(3), 403–412.

Ahmad, A., Khan, A., Yousuf, S., Khan, L. A., & Manzoor, N. (2010). Proton translocating ATPase mediated fungicidal activity of eugenol and thymol. *Fitoterapia*, *81*(8), 1157–1162.

Al-Kassie, G. A. M. (2009). Influence of two plant extracts derived from thyme and cinnamon on broiler performance. *Pakistan Veterinary Journal*, *29*(4), 169–173.

Amad, A. A., K. Manner, K. R. Wendler, K. Neumann, and J. Zentek. 2011. Effects of a phytogenic feed additive on growth performance and ileal nutrient digestibility in broiler chickens. Poultry Science 90:2811–2816.

Athanasiadou, S., Githiori, J., & Kyriazakis, I. (2007). Medicinal plants for helminth parasite control: facts and fiction. *Animal*, 1(9), 1392–1400.

Ayachi, a, Alloui, N., Bennoune, O., Yakhlef, G., Amiour, S. D., Bouzid, W., ... Abdessemed, H. (2009). Antibacterial activity of some fruits; berries and medicinal herb extracts against poultry strains of Salmonella. *American-Eurasian Journal of Agricultural and Environmental Science*, *6*(1), 12–15.

Baião, N. C., & Lara, L. J. C. (2005). Oil and fat in broiler nutrition. *Braz J Poultry Science*, 7, 129–141.

Balunas, M. J., & Kinghorn, A. D. (2005). Drug discovery from medicinal plants. *Life Sciences*, 78(5), 431–441.

Bedanova, I., E. Voslarova, P. Chloupek, V. Pistekova, P. Suchy, J. Blahova, R. Dobsikova, and V. Vecere. 2007. Stress in broilers resulting from shackling. Poultry Science 86:1065–1069.

Biswas, A. K., Keshri, R. C., & Bisht, G. S. (2004). Effect of enrobing and antioxidants on quality characteristics of precooked pork patties under chilled and frozen storage conditions. *Meat Science*, 66(3), 733–741.

Black, R. E., Allen, L. H., Bhutta, Z. A., Caulfield, L. E., de Onis, M., Ezzati, M., ... Rivera, J. (2008). Maternal and child undernutrition: global and regional exposures and health consequences. *The Lancet*, *371*(9608), 243–260.

Blair, R., 2008: Nutrition and Feeding of Organic Poultry. CAB International, Wallingford, UK.

Bodoira, R., Torres, M., Pierantozzi, P., & Taticchi, A. (2015). Oil biogenesis and antioxidant compounds from "Arauco" olive (Olea europaea L.) cultivar during fruit development and ripening. *European Journal of Lipid Science and Technology*, *117*(3), 377–388.

Boletín Avícola, Ministerio de Agroindustria de la Nación, 2016

Borazjanizadeh, M., Eslami, M., Bojarpour, M., Chaji, M., & Fayazi, J. (2011). The Effect of clove and oregano on economic value of broiler chickens diet under hot weather of Khuzestan. *Journal of Animal and Veterinary Advances*.

Botsoglou, N. A., Christaki, E., Florou-Paneri, P., Giannenas, I., Papageorgiou, G., & Spais, A. B. (2004). The effect of a mixture of herbal essential oils or ??-tocopheryl acetate on performance parameters and oxidation of body lipid in broilers. *South African Journal of Animal Sciences*, *34*(1), 52–61.

Botsoglou, N. a, Florou-Paneri, P., Christaki, E., Fletouris, D. J., & Spais, a B. (2002). Effect of dietary oregano essential oil on performance of chickens and on iron-induced lipid oxidation of breast, thigh and abdominal fat tissues. *British Poultry Science*, *43*(2), 223–30.

Botsoglou, N. A., D. J. Fletouris, P. Florou-Paneri, E. Christaki, and A. B. Spais. 2003. Inhibition of lipid oxidation in long- term frozen stored chicken meat by dietary oregano essential oil and alpha-tocopheryl acetate supplementation. Food Res. Int. 36: 207–213.

Bozkurt, M., Küçükyılmaz, K., Çatlı, A. U., & Çınar, M. (2009). Effect of dietary mannan oligosaccharide with or without oregano essential oil and hop extract supplementation on the performance and slaughter characteristics of male broilers. South African Journal of Animal Science, 39(3), 223-232.

Brenes, A., & Roura, E. (2010). Essential oils in poultry nutrition: Main effects and modes of action. *Animal Feed Science and Technology*, *158*(1–2), 1–14.

Brenes, A., Viveros, A., Goni, I., Centeno, C., Sayago-Ayerdy, S. G., Arija, I., & Saura-Calixto, F. (2008). Effect of grape pomace concentrate and vitamin E on digestibility of polyphenols and antioxidant activity in chickens. *Poultry Science*, 87(2), 307–316.

Brennan, J., Skinner, J., Barnum, D. A., & Wilson, J. (2003). The efficacy of bacitracin methylene disalicylate when fed in combination with narasin in the management of necrotic enteritis in broiler chickens. *Poult Sci*, *82*(3), 360–363.

Burdock, G. A., & Carabin, I. G. (2004). Generally recognized as safe (GRAS): History and description. *Toxicology Letters*, *150*(1), 3–18.

Burdock, G. A., Carabin, I. G., & Griffiths, J. C. (2006). The importance of GRAS to the functional food and nutraceutical industries. *Toxicology*, *221*(1), 17–27.

C. Franz, A., & Windisch, \* K. H. C. Baserb and W. (2010). Essential oils and aromatic plants in animal feeding – a European perspective. A review. *Flavour and Fragrance Journal*, *25*(November), 327–340.

Cabel, M. C., Waldroup, P. W., Shermer, W. D., & Calabotta, D. F. (1988). Effects of ethoxyquin feed preservative and peroxide level on broiler performance. *Poultry Science*, *67*(12), 1725–30.

Cabuk, M., Bozkurt, M., Alcicek, A., Akbaþ, Y., & Küçükyýlmaz, K. (2006). Effect of a herbal essential oil mixture on growth and internal organ weight of broilers from young and old breeder flocks. South African Journal of Animal Science, 36(2), 135-141.

Chen, C., Pearson, A. M., & Gray, J. I. (1992). Effects of synthetic antioxidants (BHA, BHT and PG) on the mutagenicity of IQ-like compounds. *Food Chemistry*, *43*(3), 177–183.

Chow, K.W. (1980). Storage problems of feedstuff. Fish Feed Technology. Chap. 13, 216-244.

Chung, M. K., Choi, J. H., Chung, Y. K., & Chee, K. M. (2005). Effects of dietary vitamins C and E on egg shell quality of broiler breeder hens exposed to heat stress. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, *18*(4), 545–551.

Cortinas, L., Barroeta, A., Villaverde, C., Galobart, J., Guardiola, F., & Baucells, M. D. (2005). Influence of the dietary polyunsaturation level on chicken meat quality: lipid oxidation. *Poultry Science*, *84*(1), 48–55.

Cosentino, S., Tuberoso, C. I. G., Pisano, B., Satta, M., Mascia, V., Arzedi, E., & Palmas, F. (1999). In-vitro antimicrobial activity and chemical composition of Sardinian Thymus essential oils. *Letters in Applied Microbiology*, *29*(2), 130–135.

Daniel, C. R., Cross, A. J., Koebnick, C., & Sinha, R. (2011). Trends in meat consumption in the USA. *Public Health Nutrition*, *14*(4), 575–83.

Deeb, N., & Cahaner, a. (2001). Genotype-by-environment interaction with broiler genotypes differing in growth rate. 1. The effects of high ambient temperature and naked-neck genotype on lines differing in genetic background. *Poultry Science*, *80*(6), 695–702.

Deeb, N., & Cahaner, a. (2002). Genotype-by-environment interaction with broiler genotypes differing in growth rate. 3. Growth rate and water consumption of broiler progeny from weight-selected versus nonselected parents under normal and high ambient temperatures. *Poultry Science*, *81*(3), 293–301.

Devine, R. (2003). Meat consumption trends in the world and the European union. *INRA Production Animals*, *16*(5), 325–327.

Demir, E., Kilinc, K., Yildirim, Y., Dincer, F., & Eseceli, H. (2008). Comparative effects of mint, sage, thyme and flavomycin in wheat-based broiler diets. Arch. Zootech., 11, 54-63.

Dhanarani, T. S., Shankar, C., Park, J., Dexilin, M., Kumar, R. R., & Thamaraiselvi, K. (2009). Study on acquisition of bacterial antibiotic resistance determinants in poultry litter. *Poultry Science*, *88*(7), 1381–1387.

Diaz-Sanchez, S., D'Souza, D., Biswas, D., & Hanning, I. (2015). Botanical alternatives to antibiotics for use in organic poultry production. *Poultry Science*, *94*(6), 1419–1430.

Dipplock, A.; Agget, P.; Ashwell, M.; Bornet, F.; Fern, E.; Robertfroid, M. (1999). Scientific Concepts of Functional Foods in Europe - Consensus DocumentScientific Concepts of Functional Foods in Europe - Consensus Document. *British Journal of Nutrition*, 81(1), 1–27.

Dorman, H. J., & Deans, S. G. (2000). Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *Journal of Applied Microbiology*, 88(2), 308–316.

Economou, K. D., V. Oreopoulou, and C. D. Thomopoulos, 1991. Antioxidant activity of some plant extracts of the family Labiatae. Journal of the American Oil Chemists Society 66: 792-799.

Engberg, R. M., Hedemann, M. S., Leser, T. D., & Jensen, B. B. (2000). Effect of zinc bacitracin and salinomycin on intestinal microflora and performance of broilers. *Poultry Science*, *79*(9), 1311–1319.

Eshel, G., Shepon, A., Makov, T., & Milo, R. (2014). Land, irrigation water, greenhouse gas, and reactive nitrogen burdens of meat, eggs, and dairy production in the United States. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *111*(33), 11996–12001.

Farrel, D. (2008). The role of poultry in human nutrition. *Food And Agriculture Organization of the United Nations (FAO)*, 4072.

Fernandez et al., 2017a Journal of Chromatography B, 1044, 39-46.

Fernandez et al., 2016 3er Workshop "Ecofisiología: Interacciones de los organismos con su ambiente". Lugar: San Juan.

Fernandez M. E., Marin R. H., Luna A., Zunino M. P., Lábaque M. C.. 2017. Publicación aceptada en Journal of the Science of Food and Agriculture.

Frankič, T., Salobir, J., & Rezar, V. (2008). The effect of vitamin E supplementation on reduction of lymphocyte DNA damage induced by T-2 toxin and deoxynivalenol in weaned pigs. *Animal Feed Science and Technology*, 141(3–4), 274–286.

Furtula, V., Farrell, E. G., Diarrassouba, F., Rempel, H., Pritchard, J., & Diarra, M. S. (2010). Veterinary pharmaceuticals and antibiotic resistance of Escherichia coli isolates in poultry litter from commercial farms and controlled feeding trials. *Poultry Science*, 89(1), 180–188.

García, D. A., Bujons, J., Vale, C., & Suñol, C. (2006). Allosteric positive interaction of thymol with the GABAA receptor in primary cultures of mouse cortical neurons. *Neuropharmacology*, *50*(1), 25–35.

García, D. A., Vendrell, I., Galofré, M., & Suñol, C. (2008). GABA released from cultured cortical neurons influences the modulation of t-[35S]butylbicyclophosphorothionate binding at the GABAA receptor. Effects of thymol. *European Journal of Pharmacology*, 600(1–3), 26–31.

George, B. A., Quarles, C. L., & Fagerberg, D. J. (1982). Virginiamycin effects on controlling necrotic enteritis infection in chickens. *Poult Sci*, *61*(3), 447–450.

Georgieva, N. V., Koinarski, V., & Gadjeva, V. (2006). Antioxidant status during the course of Eimeria tenella infection in broiler chickens. *Veterinary Journal*, *172*(3), 488–492. http://doi.org/10.1016/j.tvjl.2005.07.016

Hai, L., Rong, D., & Zhang, Z. (2000). The effect of thermal environment on the digestion of broilers. *Journal of Animal Physiology*, *83*, 57–64.

Hamra, C. F. (2010). An Assessment of the Potential Profitability of Poultry Farms: A Broiler Farm Feasibility Case Study. *University of Tennessee*, (May), 43.

Hashemipour, H., Kermanshahi, H., Golian, A., & Veldkamp, T. (2013). Effect of thymol and carvacrol feed supplementation on performance, antioxidant enzyme activities, fatty acid composition, digestive enzyme activities, and immune response in broiler chickens. *Poultry Science*, *92*, 2059–2069.

Hashemipour, H., Khaksar, V., Rubio, L. A., Veldkamp, T., & van Krimpen, M. M. (2016). Effect of feed supplementation with a thymol plus carvacrol mixture, in combination or not with an NSP-degrading enzyme, on productive and physiological parameters of broilers fed on wheat-based diets. *Animal Feed Science and Technology*, *211*, 117–131.

Herbold, N. H., & Frates, S. E. (2000). Update of nutrition guidelines for the teen: trends and concerns. *Current Opinion in Pediatrics*, *12*(4), 303–9.

Hernandez, F., Madrid, J., Garcia, V., Orengo, J., & Megias, M. D. (2004). Influence of two plant extracts on broilers performance, digestibility, and digestive organ size. Poultry science, 83(2), 169-174.

Hoffman-Pennesi, D., & Wu, C. (2010). The effect of thymol and thyme oil feed supplementation on growth performance, serum antioxidant levels, and cecal Salmonella population in broilers. Journal of Applied Poultry Research, 19(4), 432-443.

Holley, R. A., & Patel, D. (2005). Improvement in shelf-life and safety of perishable foods by plant essential oils and smoke antimicrobials. *Food Microbiology*, *22*(4), 273–292.

Hunton, P. (2006). 100 Years of poultry genetics. *World's Poultry Science Journal*, *62*(3), 417–428.

Jamroz, D., Orda, J., Kamel, C., Wilczkiewicz, a., Wertelecki, T., & Skorupinska, J. (2003). The influence of phytogenic extracts on performance nutrient digestibility, carcass characteristics, and gut microbial status in broiler chickens. *Journal of Animal and Feed Sciences*, v. 12(3) p, 583–596.

Jamroz, D., Wertelecki, T., Houszka, M., & Kamel, C. (2006). Influence of diet type on the inclusion of plant origin active substances on morphological and histochemical characteristics of the stomach and jejunum walls in chicken. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, *90*(5–6), 255–268.

Jamroz, D., Wiliczkiewicz, A., Wertelecki, T., Orda, J., & Skorupi, J. (2005). Use of active substances of plant origin in chicken diets based on maize and locally grown cereals. *British Poultry Science*, *46:4*(July 2005), 485–493.

Jang, I. S., Ko, Y. H., Kang, S. Y., & Lee, C. Y. (2007). Effect of a commercial essential oil on growth performance, digestive enzyme activity and intestinal microflora population in broiler chickens. *Animal Feed Science and Technology*, *134*(3–4), 304–315.

Jang, I. S., Ko, Y. H., Yang, H. Y., Ha, J. S., Kim, J. Y., Kim, J. Y., ... Nam, D. S. (2002). Influence of Essential Oil Components on Growth Performance and the Functional Activity of the Pancreas and Small Intestine in Broiler Chickens \*, 394–400.

Jayathilakan, K., Sharma, G. K., Radhakrishna, K., & Bawa, A. S. (2007). Antioxidant potential of synthetic and natural antioxidants and its effect on warmed-over-flavour in different species of meat. *Food Chemistry*, *105*(3), 908–916.

Kamel, C., 1999. Use of plant extracts in European pig diets. Feed Comp. 19, 23-27

Kamel, C., 2001: Tracing modes of action and the roles of plant extracts in non-ruminants: pp.135-150. in: Recent advances in animal nutrition. P.C. Garnsworthy and J. Wiseman, Eds. Nottingham University Press, Nottingham

Kancheva, V., Slavova-Kazakova, A., Fabbri, D., Dettori, M. A., Delogu, G., Janiak, M., & Amarowicz, R. (2014). Protective effects of equimolar mixtures of monomer and dimer of dehydrozingerone with a-tocopherol and/or ascorbyl palmitate during bulk lipid autoxidation. *Food Chemistry*, *157*, 263–274.

Karakaya, M., Bayrak, E., & Ulusoy, K. (2011). Use of Natural Antioxidants in Meat and Meat Products. *Journal of Food Science and Engineering*, 1, 1–10.

Khattack, F., A. Ronchi, P. Castelli, and N. Sparks. 2014. Effects of natural blend of essential oil on growth performance, blood biochemistry, cecal morphology and carcass quality of broiler chicken. Poult. Sci. 93:132–137

Koscova, J., Nemcova, R., Gancarcikova, S., Jonecova, Z., Scirankova, L., Bomba, A., & Buleca, V. (2006). Effect of two plant extracts and Lactobacillus fermentum on colonization of gastrointestinal tract by Salmonella enterica var. D" usseldorf in chicks\*. *Section Cellular and Molecular Biology*, *61*(6), 775–778.

Kreydiyyeh, S. I., Usta, J., Knio, K., Markossian, S., & Dagher, S. (2003). Aniseed oil increases glucose absorption and reduces urine output in the rat. *Life Sciences*, *74*(5), 663–673.

Kroismay, A.; Steiner, T.; Zhang, C. Influence of a phytogenic feed additive on performance of weaner piglets. J. Anim. Sci. 2006, 84, 329

Kroismayr, A., Sehm, J., Pfaffl, M. W., Schedle, K., Plitzner, C., & Windisch, W. M. (2008). Effects of avilamycin and essential oils on mRNA expression of apoptotic and inflammatory markers and gut morphology of piglets. *Czech Journal of Animal Science*, *53*(9), 377–387.

Lábaque, M. C., Kembro, J. M., Luna, A., & Marin, R. H. (2013). Effects of thymol feed supplementation on female Japanese quail (Coturnix coturnix) behavioral fear response. *Animal Feed Science and Technology*, *183*(1–2), 67–72.

Lee, K. W. (2002). Essential oils in broiler nutrition (Doctoral dissertation, Uttercht University).

Lee, K. W., Everts, H., & Beynen, A. C. (2004). *Essential oils in broiler nutrition*. *International Journal of Poultry Science* (Vol. 3).

Lee, K. W., Everts, H., Kappert, H. J., Frehner, M., Losa, R., & Beynen, A. C. (2003). Effects of dietary essential oil components on growth performance, digestive enzymes and lipid metabolism in female broiler chickens. *British Journal of Poultry Science*, *44*(July 2015), 450–457.

Lee, K. W., Everts, H., Kappert, H. J., Wouterse, H., Frehner, M., & Beynen, A. C. (2004). Cinnamaldehyde, but not thymol, counteracts the carboxymethyl cellulose-induced growth depression in female broiler chickens. *International Journal of Poultry Science*, *3*(9), 608–612.

Leenstra, F. R., and R. Pit. 1987. Fat deposition in a broiler sire strain. 2. Comparisons among lines selected for less abdominal fat, lower feed conversion ratio, and higher body weight after restricted or ad libitum feeding. Poult. Sci. 66:193–202.

Lin, H., Decuypere, E., & Buyse, J. (2006). Acute heat stress induces oxidative stress in broiler chickens. *Comparative Biochemistry and Physiology. Part A, Molecular & Integrative Physiology*, 144(1), 11–17.

Luna, A., Dambolena, J. S., Zygadlo, J. A., Marin, R. H., & Labaque, M. C. (2012). Effects of thymol and isoeugenol feed supplementation on quail adult performance, egg characteristics and hatching success A. *British Poultry Science*, *Volume 53* (March 2013), 631—639.

Luna, A., Lábaque, M. C., Zygadlo, J. a, & Marin, R. H. (2010). Effects of thymol and carvacrol feed supplementation on lipid oxidation in broiler meat. *Poultry Science*, 89, 366–370.

Lykkesfeldt, J., & Svendsen, O. (2007). Oxidants and antioxidants in disease: Oxidative stress in farm animals. *Veterinary Journal*, *173*(3), 502–511.

Magdelaine, P., Spiess, M. P., & Valceschini, E. (2008). Poultry meat consumption trends in Europe. *World's Poultry Science Journal*, *64*(February), 10–14.

Marangoni, F., Corsello, G., Cricelli, C., Ferrara, N., Ghiselli, A., Lucchin, L., & Poli, A. (2015). Role of poultry meat in a balanced diet aimed at maintaining health and wellbeing: An Italian consensus document. *Food and Nutrition Research*, *59*, 1–11.

Marin, R. H., & Jones, R. B. (1999). Latency to traverse a T-maze at 2 days of age and later adrenocortical responses to an acute stressor in domestic chicks. *Physiology and Behavior*, 66(5), 809–813.

Marin, R. H., & Jones, R. B. (2000). T-maze behaviour in broiler chicks is not sensitive to right-left preferences, test order or time-of-day. *Applied Animal Behaviour Science*, 68(3), 207–214.

McMullin, P. A pocket guide to poultry health and disease. 2004. 5M Enterprises Ltd.

Min, B., & Ahn, D. U. (2005). Mechanism of Lipid Peroxidation in Meat and Meat Products -A Review. *Food Science and Biotechnology*, *14*(1), 152–163.

Mirshekar, R., Dastar, B., & Shabanpour, B. (2009). Effect of rosemary, aechinacea, green tea extracts and ascorbic acid on broiler meat quality. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, *12*(15), 1069–1074.

Mitsch, P., Ko, B., Gabler, C., Losa, R., & Zimpernik, I. (2004). The Effect of Two Different Blends of Essential Oil Components on the Proliferation of Clostridium perfringens in the Intestines of Broiler Chickens, 669–675.

Ocak, N., Erener, G., Ak, F., Sungu, M., Altop, A., & Ozmen, A. (2008). Performance of broilers fed diets supplemented with dry peppermint (Mentha piperita L.) or thyme (Thymus vulgaris L.) leaves as growth promoter source. *Czech J. Anim. Sci.*, *53*(4), 169–175.

Olonitola, O. S., Fahrenfeld, N., & Pruden, A. (2015). Antibiotic resistance profiles among mesophilic aerobic bacteria in Nigerian chicken litter and associated antibiotic resistance genes. *Poultry Science*, *94*(5), 867–874.

Palaniappan, K., & Holley, R. A. (2010). Use of natural antimicrobials to increase antibiotic susceptibility of drug resistant bacteria. *International Journal of Food Microbiology*, *140*(2–3), 164–168.

Papas, A. M. (1996). Determinants of antioxidant status in humans. *Lipids*, *31 Suppl*(1), S77-82. http://doi.org/10.1007/BF02637055

Perić, L., Milošević, N., & Žikić, D. (2010). Effects of probiotic and phytogenic products on performance, gut morphology and cecal microflora of broiler chickens. *Archiv Fur Tierzucht-...*, *53*(October 2014), 350–359.

Platel, K., and K. Srinivasan. 2004. Digestive stimulant action of spices: A myth or reality? Indian J. Med. Res. 119:167–179.

Puvaca, N., Stanacev, V., Glamocic, D., Levic, J., Peric, L., Stanacev, V., & Milic, D.

Pym, R. A. E., and P. J. Nicholls. 1979. Selection for food conversion in broilers: Direct and correlated responses to selection for body weight gain, food consumption, and food conversion ratio. Br. Poult. Sci. 20:73–86 (2013).

Beneficial effects of phytoadditives in broiler nutrition. *Worlds Poultry Science Journal*, 69(1), 27–34.

Pym, R. A. E., P. J. Nicholls, E. Thomson, A. Choice, and D. J. Farrell. 1984. Energy and nitrogen metabolism of broilers selected over 10 generations for increased growth rate, food consumption, and conversion of food to gain. Br. Poult. Sci. 25:529–539.

Roe, M. T., & Pillai, S. D. (2003). Monitoring and identifying antibiotic resistance mechanisms in bacteria. *Poultry Science*, *82*(4), 622–6.

Russo, M., Galletti, G. C., Bocchini, P., & Carnacini, A. (1998). Essential Oil Chemical Composition of Wild Populations of Italian Oregano Spice (Origanum vulgare ssp. hirtum (Link) letswaart): A Preliminary Evaluation of Their Use in Chemotaxonomy by Cluster Analysis. 1. Inflorescences. *Journal of Food Chemistry*, 8561(98), 3741–3746.

Rynsburger, J. M. (2009). Physiological and nutritional factors affecting protein digestion in broiler chickens. *Thesis MSc*, (September), 1–119.

Sahin, K., Sahin, N., Onderci, M., Gursu, M. F., & Issi, M. (2003). J2-Agriculture-85.Pdf, 1(April), 244–249.

Sarica, S., Ciftci, A., Demir, E., Kilinc, K., & Yildirim, Y. (2005). Use of an antibiotic growth promoter and two herbal natural feed additives with and without exogenous enzymes in wheat based broiler diets. South African Journal of Animal Science, 35(1), 61-72.

Senatore, F., 1996. Influence of harvesting time on yield and composition of the essential oil of a thyme (Thymus pulegioides L.) growing wild in Campania (Southern Italy). J. Agric. Food Chem. 44, 1327–1332.

Sheehy, P. J. A., P. A. Morrissey, and D. J. Buckley. 1995. Advances in research and application of vitamin E as an antioxidant for poultry meat. Pages 425–433 in Poultry Meat Quality. Proc. XII Eur. Symp. Qual. Poult. Meat, Zaragoza, Spain. R. Cepero Briz, ed.

Skinner-Noble, D. O., & Teeter, R. G. (2004). Components of Feed Efficiency in Broiler Breeding Stock: The Use of Fasted Body Temperature as an Indicator Trait for Feed Conversion in Broiler Chickens 1, 2.

Snyder, D. L., and B. S. Wostmann. 1987. Growth rate of male germfree Wistar rats fed ad libitum or restricted natural ingredi- ent diet. Lab. Anim. Sci. 37:320–325.

Solá-Orio, D., Roura, E., & Torrallardona, D. (2011). Feed preference in pigs: Effect of selected protein, fat, and fiber sources at different inclusion rates. *Journal of Animal Science*, 89(10), 3219–3227.

Steiner, T. 2006. Managing gut health-natural growth promoters as a key to animal performance. Nottingham University Press, Not-tingham, United Kingdom.

USDA, Economic Research Service, 2014

Tiihonen, K., Kettunen, H., Bento, M., Saarinen, M., Lahtinen, S., Ouwehand, A., ... Rautonen, N. (2010). British Poultry Science The effect of feeding essential oils on broiler performance and gut microbiota The effect of feeding essential oils on broiler performance and gut microbiota. *British Poultry Science*, *51*(3), 381–392.

Ündeğer, Ü., Başaran, A., Degen, G. H., & Başaran, N. (2009). Antioxidant activities of major thyme ingredients and lack of (oxidative) DNA damage in V79 Chinese hamster lung fibroblast cells at low levels of carvacrol and thymol. *Food and Chemical Toxicology*, 47(8), 2037–2043.

Varel, V. H. 2002. Livestock manure odor abatement with plant- derived oils and nitrogen conservation with urease inhibitors: A review. J. Anim. Sci. 80:1–7.

Vidanarachchi, J. K., Mikkelsen, L. L., Sims, I., Iji, P. a, & Choct, M. (2005). Phytobiotics: alternatives to antibiotic growth promoters in monogastric animal feeds. *Recent Advances in Animal Nutrition in Australia*, *15*(Kamel 2001), 131–144.

Voljc, M., Frankic, T., Levart, A., Nemec, M., & Salobir, J. (2011). Evaluation of different vitamin E recommendations and bioactivity of -tocopherol isomers in broiler nutrition by measuring oxidative stress in vivo and the oxidative stability of meat. *Poultry Science*, *90*(7), 1478–1488.

Warren, D. C. 1953. Breeding for Improvement of Economic Traits. Pages 128–173 in Practical Poultry Breeding. MacMil- lan, Dallas.

Welfare Quality <sup>®</sup>. (2009). Welfare Quality <sup>®</sup> assessment protocol for poultry (broilers, laying hens). *Welfare Quality ® Consortium, Lelystad, the ...*, 21–59.

Wenk, C., 2006. Are herbs, botanicals and other related sub- stances adequate replacements for antimicrobial growth promoters? Pages 329–340 in Antimicrobial Growth Promoters. D. Barug, J. de Jong, J. Kies, A. K., and Verstegen M. W. A. eds. Wageningen Academic Publishers, The Netherlands.

Williams, P., & Losa, R. (2001). The use of essential oils and their compounds in poultry nutrition. *World Poult*, *17*(4), 14–15.

Windisch, W., and A. Kroismayr. 2007. Natural phytobiotics for health of young piglets and poultry: mechanisms and application. Poult. Sci. 86:643.

Windisch, W., Schedle, K., Plitzner, C., & Kroismayr, A. (2008). Use of phytogenic products as feed additives for swine and poultry. *Journal of Animal Science*, *86*(14 Suppl), 140–148.

Yang, C., Chowdhury, M. A. K., Huo, Y., & Gong, J. (2015). Phytogenic compounds as alternatives to in-feed antibiotics: potentials and challenges in application. *Pathogens* (*Basel, Switzerland*), *4*(1), 137–56.

Yanishlieva, N. V., Marinova, E. M., Gordon, M. H., & Raneva, V. G. (1999). Antioxidant activity and mechanism of action of thymol and carvacrol in two lipid systems. *Food Chemistry*, *64*(1), 59–66.

Young, J. F., Stagsted, J., Jensen, S. K., Karlsson, A. H., & Henckel, P. (2003). Ascorbic acid, alpha-tocopherol, and oregano supplements reduce stress-induced deterioration of chicken meat quality. *Poult Sci*, 82(8), 1343–1351.

Zarrini, G., Delgosha, Z. B., Moghaddam, K. M., & Shahverdi, A. R. (2010). Post-antibacterial effect of thymol. *Pharmaceutical Biology*, *48*(6), 633–636.

Zhao, R., Muehlbauer, E., Decuypere, E., & Grossmann, R. (2004). Effect of genotype-nutrition interaction on growth and somatotropic gene expression in the chicken. *General and Comparative Endocrinology*, *136*(1), 2–11.

Zubair, A. K., & Leeson, S. (1996). Compensatory growth in the broiler chicken: A review. *Worlds Poultry Science Journal*, *52*(2), 189–201.

Zuidhof, M. J., Schneider, B. L., Carney, V. L., Korver, D. R., & Robinson, F. E. (2014). Growth, efficiency, and yield of commercial broilers from 1957, 1978, and 2005. Poultry Science, 93(12), 2970-2982.

## Anexos.-

## 1. Composición de alimentos

COMPOSICIÓN ALIMENTO POLLO PARRILLERO (kg %)			
COMPONENTE	PRE- INICIADOR	INICIADOR	TERMINADOR
Lisina	0,22	0,24	0,22
Conchilla	-	0,49	0,6
Cloruro de colina al 75 % parrillero	0,07	0,07	0,07
Harina de carne	4,75	-	1,75
Sal entrefina lavada y seca	0,32	0,32	0,3
Nucleo mineral parrillero	0,15	0,15	0,1
Metionina al 88% (liq.)	0,55	0,47	0,365
Treonina	0,12	0,1	0,07
Nucleo vitaminico parrillero	0,15	0,12	0,1
Acidificante (a base de lactato de Na)	0,1	0,15	0,2
Proteasa bacterial (prescindible)	0,025	0,025	0,025
SECUESTRANTE (silicato de Al)	0,2	0,3	0,3
Fitasa	0,01	0,01	0,01
Pellets de soja	34,3	26,6	17,25
Aceite soja crudo	2,5	2,5	1,95
Soja	8,8	13	13
Maiz	47,6	51,2	61,665
Emulsionante (ej. Volamel miscela)	0,25	0,25	0,025
Harina de plumas	-	1,5	1,5
Harina de sangre	-		0,5

## 2. Estado de lesiones en garra





## Agradecimientos.-

A Raúl, que me abrió las puertas del laboratorio sin dudarlo y me brindó todo lo que un profesor, un guía y un amigo pueden brindar.

Al Agus, que me recibió como tesinista sin siquiera conocerme y me trató siempre como un igual. Trabajamos, renegamos y festejamos juntos, par a par.

A los pibes y las chicas de la facu, que nunca dejaron de estar, aun cuando yo no estaba.

A las chicas de foto, que me alegran la vida cada vez que las veo.

A la Lu, porque aunque nuestra amistad no sea la misma, el amor no se borra.

A mis k-amigos de toda la vida, que me hacen olvidar del mundo.

Al negro, nacho y beto, que siempre fueron mi Jujuy en Córdoba.

A mi hermano, que le debo todo y mucho más.

A mi hermana, que me trata como un rey, siempre seré su hermanito.

A mis viejos, que las palabras no alcanzan para expresar el amor y la gratitud infinitos que siento hacia ellos. Papi, mami, esto es para ustedes.

A mi yeya Berta, la mejor persona que tuve el placer de conocer en este mundo.

A todos los seres maravillosos que conocí en esta provincia y me abrieron la cabeza y el corazón para siempre. Me enseñaron tantas cosas, que nunca volveré a ser el mismo.

Gracias.