

TÍTULO DEL PROYECTO

Efecto de la adición del extracto etanólico de *Polygonum hydropiperoides* en dietas de pollos de engorde, sobre el crecimiento de bacterias patógenas intestinales, la estructura y actividad enzimática intestinal y el desempeño productivo y económico de la crianza

SIGLAS

PHPP

TIPO DE PROYECTO

Aplicada

LÍNEA DE INVESTIGACIÓN

Producción y bienestar animal

DURACIÓN ESTIMADA

Fecha de inicio: 20/06/2019 Fecha de término: 20/06/2020

PARTICIPANTES

- CASTILLO SOTO WILSON LINO (INVESTIGADOR) — 000080348
- VALLENAS SANCHEZ YHANN POOL (ESTUDIANTE) — 000151625
- HUAMAN DAVILA ANGELICA MARIA (COORDINADOR(INV. PRINCIPAL)) — 000038938

INSTITUCIÓN O LUGAR A EJECUCARSE

- Sin Especificar

I. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El avance científico y tecnológico relacionado al mejoramiento genético y la nutrición aviar han permitido que los pollos de engorde alcancen fisiológicamente más temprano el peso corporal esperado para el mercado; sin embargo, este rápido desarrollo perjudica otros aspectos, como la respuesta inmunológica (Cheema, citado por Tavernari, 2008); esto se evidencia con la mayor susceptibilidad que presentan las aves a las alteraciones entéricas, comparados con las aves de hace 30 años (Tavernari, 2008). Por otro lado, este rápido crecimiento ha generado importantes cambios en el tracto gastrointestinal y en la integridad de la microestructura del intestino (Bartell, 2007).

Desde el nacimiento, el tracto gastrointestinal del pollito se encuentra aún inmaduro, esta etapa es crucial para el desarrollo y funcionamiento del intestino, ya que realiza la transición del uso de nutrientes contenidos en el huevo a los contenidos en la dieta, además su funcionamiento digestivo y de absorción son limitados, con una deficiente actividad enzimática y un sistema inmunológico aún inmaduro (Timothy, 2017). A diferencia de los mamíferos, las aves poseen un tránsito digestivo más rápido y una acidez mayor; a su vez el intestino de las aves posee una

densidad más alta de microvellosidades, un ritmo de regeneración epitelial más rápido, y una respuesta inflamatoria a las agresiones entéricas más rápida, volviéndolas más susceptibles a los trastornos que afectan la capacidad de absorción intestinal y a la inflamación (Hoerr, citado por Sánchez, 2018). Por otro lado, debido a su gran superficie y carga microbiana, el intestino es vulnerable a la invasión de patógenos por estar protegido únicamente por una capa de células epiteliales para cumplir su función de absorción de nutrientes (Torrealba, 2007). Éste es uno de los principales factores que pueden alterar su integridad intestinal (Hoerr, citado por Sánchez, 2018), provocando diversas reacciones en el tracto gastrointestinal como que la capa de moco se degrade, que las células epiteliales se deshagan o destruyan, que el suministro vascular se interrumpa, o que el sistema inmune se comprometa (Sánchez, 2018).

El daño del epitelio intestinal tras las agresiones, produce una inflamación y posterior necrosis de las vellosidades, con pérdida y destrucción de los enterocitos, generando un recambio celular forzado, que tarda de 3 a 5 días en producirse, en este período los nuevos enterocitos generados en las criptas de las vellosidades recubren las zonas afectadas que, durante este tiempo no pudieron realizar la absorción de nutrientes presentes en el alimento. A consecuencia de esto, además de problemas en la microflora, pérdida de mucosa intestinal, deficiente absorción y poca actividad enzimática; las aves afectadas retrasan su ganancia de peso, lo que producirá pérdidas económicas considerables (Faus, 2008). En consecuencia, el desarrollo del TGI juega un papel crítico en el crecimiento temprano del pollo de engorde, y el crecimiento rápido del intestino es un requisito para soportar las altas y constantes tasas de crecimiento corporal. Por ello actualmente se realizan muchas investigaciones sobre adicionar agentes son adicionados a las dietas para monogástricos con el objetivo de mejorar y preservar la integridad de la mucosa intestinal, como probióticos, prebióticos y pronutrientes como los nutracéuticos (Avellaneda, 2008).

II. ANTECEDENTES DEL PROBLEMA

En la crianza de aves, el costo más alto para producir un kilogramo de pollo es el alimento, que puede llegar hasta 60-80% del costo total; por lo tanto, las raciones deben formularse para aportar el balance correcto de energía, proteína y aminoácidos, minerales, vitaminas y ácidos grasos esenciales, para permitir el crecimiento, rendimiento óptimo y disminuir los costos elevados. Considerando que la elección de los niveles de nutrientes en la dieta es una decisión económica que cada productor asume; entonces, la clave está en cómo alimentar los pollos de manera inteligente con el menor costo de producción posible. (Rubín citado por Torrealba, 2007).

Al nacer los pollitos poseen un tracto gastrointestinal aún inmaduro (Timothy, 2017); y son poco eficientes para digerir grasas y proteínas, estabilizándose este proceso a partir de los 10 a 14 días de edad (Batal, citado por Tavernari y otros, 2008), todo esto lo vuelve susceptible a patologías que pueden afectar su crecimiento y desarrollo. Durante las dos o tres primeras semanas de vida

es cuando el microbiota intestinal va a ir evolucionando, pasando de una situación de predominio inicial de bacterias aerobias a otra de anaerobias, en el que bacterias como el *Clostridium perfringens* u otras, que pueden llegar a provocar desequilibrios intestinales no siempre detectables. Este aspecto favorece la pérdida de integridad intestinal, generando una mala absorción de nutrientes, lo que origina que haya más nutrientes disponibles para las bacterias del intestino delgado, pudiendo ocasionar un crecimiento excesivo de la población bacteriana. Adicionalmente, la mala absorción puede originar que las proteínas, los azúcares y las grasas pasen a los ciegos, causando un cambio en la población microbiana, alejándola del ideal de bacterias fermentativas (Bayley, 2013).

Las industrias productoras de alimentos para monogástricos están continuamente investigando alternativas para sustituir los antibióticos promotores de crecimientos. En el mercado existen diferentes aditivos utilizados en la alimentación de aves, se encuentran los ácidos orgánicos, prebióticos, probióticos, y actualmente se vienen investigando los efectos benéficos de principios activos de algunas plantas, consideradas como nutraceuticos, que pueden ser positivos en la salud de los animales por tener una actividad biológica importante, como antibióticos, antiparasitarios y antiinflamatorios, como los flavonoides y los taninos (Peñarrieta y otros, 2014; Zambrano y otros, 2017). Se ha investigado el empleo de principios nutraceuticos como promotores del crecimiento en pollos de engorde, en estudio se demostró mayor incremento de peso con el uso de nutraceuticos que en los tratamientos en los que se empleó antibiótico como promotor de crecimiento en magnitudes entre 13 y 17% (Del Carpio, 2015). Otra investigación, utilizando a *Ulva rigida*, una especie de alga, adicionándola en la dieta mejoró la integridad intestinal, redujo el contenido de colesterol y triglicéridos, sin afectar las variables productivas por lo que puede ser considerada como un ingrediente con propiedades nutraceutica (Cañedo, 2017).

III. FUNDAMENTACIÓN DE LAS ACTIVIDADES NO LECTIVAS

Realizar investigación en la línea de producción animal, generando nuevos conocimientos que contribuyan con el desarrollo de la población.

A los docentes que logren el financiamiento de sus proyectos de investigación, a través del Fondo de Apoyo a la Investigación (FAIN- UPAO) se les asignará una carga horaria de hasta 10 horas semanal/mensual para el desarrollo del proyecto, las cuales se aplican como parte de su carga lectiva en el caso de los docentes ordinario, y es remunerada como carga no lectiva en el caso de los docentes contratados.

III. JUSTIFICACIÓN DEL PROYECTO (IMPORTANCIA, BENEFICIARIOS, RESULTADOS ESPERADOS)

La demanda de carne de pollo en Latinoamérica ha aumentado significativamente en los últimos años. La actividad avícola genera al año aproximadamente S/ 11.000 millones; además el país ha estabilizado su consumo de pollo, conociendo que hace 13 años se consumía casi la mitad de lo que se consume ahora. De un total de 18 países, Perú ocupa el cuarto lugar en el consumo de la carne de esta ave. (Contreras y otros, 2018). En 2017, Perú fue el país con mayor consumo per cápita de pollo, con 46.66 kg por persona por año, seguido de Argentina (44 kg/persona), Bolivia (43 kg/persona), Brasil y Panamá (42 kg/persona en cada país (Burgos, 2018). En el periodo enero – diciembre 2018, el Sub Sector Pecuario muestra un crecimiento de 5,4 % respecto al similar periodo del año 2017 influenciado principalmente por el comportamiento positivo de la actividad avícola que se incrementa en 7,7% (ave 7,5% y huevo 8,9%). El pollo se expande en 8,0%. Las principales regiones productoras de carne de pollo para el 2018 han sido Lima (54.3%), La Libertad (18.4%), Arequipa (10.2%) e Ica (4.4%) respectivamente (MINAGRI, 2019). El aumento de los ingresos y del consumo de alimentos, publicado por la Organización de Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, hace referencia a que el consumo de comida de origen animal en un país se incrementa de forma significativa al aumentar los ingresos per cápita (Burgos, 2018).

Por otro lado, se considera que el primer factor limitante para alcanzar el potencial genético del crecimiento de las líneas mejoradas de pollos de engorde es el desarrollo de órganos asociados al tracto gastro intestinal, lo que permite asegurar el crecimiento posterior de órganos o tejidos que demandan, como el músculo (Avellaneda, 2008). Por ello, es que se buscan alternativas, ingredientes nutricionales como los prebióticos, enzimas, aceites esenciales, ácidos orgánicos y nutracéuticos, para reemplazar a los antibióticos promotores de crecimiento; que puedan obtener mejores parámetros productivos en pollos y proteger la integridad intestinal (López, citado Zambrano y otros ,2013). De igual manera, se viene investigando acerca de formas para acelerar el crecimiento y aumentar el peso final del pollo de engorde, pero sin perjudicar el costo beneficio (Timothy, 2017; Cañedo, 2008). Por tal motivo, los altos costos de los insumos para formular las dietas generan bajos márgenes de rentabilidad, lo que motiva a investigar sobre la optimización del aprovechamiento de los nutrientes a partir de una buena salud e integridad intestinal; que permitan disminuir los costos de alimentación y lograr sistema digestivo saludable, que es crucial para un óptimo desempeño de las aves (Torrealba, 2007).

A su vez, el uso en la medicina tradicional de ciertas plantas, pone en manifiesto la potencialidad de las mismas en producir efectos beneficiosos tanto para la salud humana como animal, por poseer principios activos o nutracéuticos como los polifenoles, entre los que se encuentran los flavonoides con propiedades antiinflamatorias, antimicrobianas y protectoras del sistema digestivo (Jácome y otros, 2003). Este aspecto motiva a realizar investigaciones en plantas poco estudiadas o que se consideran malezas, pero que contengan estos principios activos que pueden ayudar a solucionar problemas de salud en los animales y a bajo costo. Es el caso de *Polygonum hydropiperoides*, esta especie ha sido utilizada en la medicina tradicional como

antidiarreica, antihemorroidal, astringente, antiséptica de uso tópico y anti disentérica; acciones que son atribuidas a sus principios activos como nutraceuticos, principalmente a sus elevados contenidos de taninos y flavonoides (Duarte y otros, 1995).

Estudios realizados comprobaron que entre los principales componentes del *P. hidropiperoides* de importancia como principios activos de uso medicinal, están los flavonoides, que poseen una actividad biológica importante, como antibióticos, antiparasitarios, antiinflamatorios (Peñarrieta y otros, 2014), además de presentar actividad captadora de radicales libres; y los taninos con propiedades antibacterianas, astringentes y antisépticas (Arraiza, 2009). Investigaciones más recientes realizadas por Bussmann y otros (2008) demostraron la capacidad su capacidad antimicrobiana, ya que generaba un halo de inhibición de 9mm para *S. aureus*. El demostrar que el uso de *Polygonum hydropiperoides*, ayuda a controlar el crecimiento de patógenos intestinales, mejora la integridad intestinal y la actividad enzimática de las aves, favoreciendo la digestión y absorción de nutrientes, aumentando los índices productivos como ganancia de peso, optimizando la productividad; conllevaría a que los productores sean los beneficiados por reducir los costos de producción y obtener mayor rentabilidad. De igual modo, la población podrá beneficiarse por consumir aves provenientes de crianzas libres del uso de antibióticos, principal preocupación en la salud pública, por generar resistencias bacterianas.

IV. OBJETIVOS

Objetivos Específicos	Medios de Verificación
(Componentes)	Resultados Intermedios:
1	Evaluar el efecto de la adición del extracto etanólico de <i>Polygonum</i> <i>hydropiperoides</i> en dietas de pollos de engorde, sobre el crecimiento de bacterias patógenas intestinales, la estructura y actividad enzimática intestinal y el P1. Comportamiento productivo de las aves en función de los tratamientos. MV1. Reportes de ganancia de peso, consumo de alimento y conversión alimenticia de las aves, por fase de crianza

P2. Efecto inhibitorio del MV2. Reporte de crecimiento de bacterias resultados de la patógenas intestinales, inhibición del in vitro, según dosis.	crecimiento de bacterias patógenas intestinales in vitro, según dosis probada.
P3. Mejor estructura intestinal de las aves en función de los tratamientos.	MV3. Reporte de la evaluación de estructura intestinal de las aves según el tipo de alimento recibido
P4. Mayor actividad de las enzimas intestinales de los cuyes en función de los tratamientos	MV4. Reporte de la evaluación de la actividad enzimática de las aves según el tipo de alimento recibido

IV. OBJETIVOS

Objetivo General (Propósito del proyecto)	Resultados Finales	Medios de Verificación
Generar tecnologías en la crianza de pollos de carne en la región, que permitan mejorar la producción mediante el uso de aditivos en la dieta que promueven la integridad intestinal, viabilizando la crianza y contribuyendo a mejorar los índices nutricionales y los ingresos económicos de la población.	R1. Adecuado comportamiento productivo de las aves con el uso de <i>Polygonum hydropiperoides</i> en el alimento.	MV1 Reportes del comportamiento productivo de acuerdo a los parámetros establecidos para la crianza.

R2. Mejores beneficios económicos con el uso de *Polygonum hydropiperoides* en la dieta.

MV2.

Análisis de costos y beneficios de cada tratamiento resultado de la crianza.

V. MARCO TEÓRICO

5.1 Fisiología digestiva del ave

El sistema digestivo del pollo comprende el pico, lengua, esófago, buche, proventrículo, molleja, intestinos y cloaca (Cañedo, 2017), su función principal es ingerir el alimento, digerirlo (por medios mecánicos, químicos y enzimáticos) para obtener y absorber los nutrientes (Cervantes, 2011)..; es un ambiente dinámico de interacciones complejas entre el contenido presente en el lumen intestinal, la microflora y las células epiteliales de absorción, que proporcionan protección física e inmunológica (Tavernari y otros, 2008). Al ser abierto y tener contacto con el exterior, se expone a múltiples patógenos y toxinas, y por ello se encuentra en constante estado de reacción e inflamación. El epitelio que lo recubre, forma una superficie semipermeable, permitiendo selectivamente el paso de líquidos, electrolitos y nutrientes disueltos; además de ser una barrera física natural para restringir el ingreso de agentes patógenos al intestino y al resto del organismo; esta integridad es interrumpida cuando los agentes o toxinas destruyen las células del epitelio intestinal (Cervantes, 2011).

A diferencia de los mamíferos, el tubo intestinal del ave es más pequeño por su adaptación al vuelo, por ello posee una mayor irrigación sanguínea, mayor secreción gástrica, un tránsito digestivo más rápido y una acidez mayor; a su vez el intestino de las aves posee una densidad más alta de microvellosidades, un ritmo de regeneración epitelial más rápido, y una respuesta inflamatoria a las agresiones entéricas en las primeras 12 horas, a diferencia de los 3 o 4 días en mamíferos; esta particularidad, las vuelve más susceptibles a los trastornos que afectan la capacidad de absorción intestinal (Hoerr, citado por Sánchez, 2018).

Son diversos los factores que pueden influir en el desempeño del tracto gastrointestinal de los

pollos, como los estímulos inmunitarios, el ambiente, la nutrición, los ingredientes de la ración, los patógenos, la actividad enzimática, equilibrio de la microflora, la motilidad, entre otros. (Torrealba, 2007). Un tracto digestivo saludable, con una población microbiana.

con una población microbiana balanceada, y adecuada actividad enzimática digestiva, es indispensable para obtener un buen desempeño acorde con el potencial genético del pollo (Zoetis, citado por Zambrano y otros, 2017). La principal vía para controlar el desarrollo y función del tracto gastrointestinal del ave es a través de la dieta, vista no solamente como una fuente de nutrientes, sino como un regulador de los procesos fisiológicos (Avellaneda y otros, 2008).

La primera semana del pollito es crítica para el desarrollo y funcionamiento del intestino; al nacer, realiza la transición del uso de nutrientes contenidos en el huevo a los contenidos en la dieta, además su funcionamiento digestivo y de absorción son limitados, con una deficiente actividad enzimática y un sistema inmunológico aún inmaduro (Timothy, 2017); son poco eficientes para digerir grasas y proteínas, estabilizándose este proceso a partir de los 10 a 14 días de edad (Batal, citado por Tavernari y otros, 2008).; mientras establece una microflora intestinal estable; la que está relacionada a muchos procesos fisiológicos, nutricionales e inmunológicos, que pueden influenciar la salud y la productividad de las aves. La población normal de microflora en el intestino protege al ave de los microorganismos patógenos (Cañedo, 2017), esta población está formada principalmente por lactobacilos, pudiéndose encontrar enterococos, *E. coli*, eubacterias, clostridios, propionibacterias, y fusobacterias, ésta evoluciona a medida que el ave envejece, pero generalmente será estable a las dos semanas de edad. La microflora intestinal forma una barrera protectora que cubre el intestino, previniendo el crecimiento de bacterias patógenas como *Salmonella*, *Campylobacter* y *Clostridium perfringens*, este principio se conoce como exclusión competitiva (Bayley, 2013), que a su vez aminora el daño intestinal y/o inflamación, y como consecuencia permite un mejor aprovechamiento de los nutrientes (Timothy, 2017). Cabe resaltar, que los disturbios estructurales y funcionales ocasionados al tejido intestinal de los pollitos son los que van a interferir sobre la salud y el desempeño posterior de las aves (Tavernari y otros, 2008).

5.2 Mantenimiento de la integridad intestinal del ave

Se define como la funcionalidad óptima del intestino, dando como resultado un adecuado aprovechamiento de los nutrientes y un crecimiento eficiente de las aves. Las alteraciones en el intestino, son respondidas desviando energía destinada al crecimiento y ganancia de peso, a la función defensiva (Faus, 2008). Los cambios en la estructura intestinal, como el acortamiento de las vellosidades y alteraciones en la profundidad de las criptas, se han asociado con la presencia de patógenos y toxinas; reduciendo la superficie de absorción de nutrientes y perjudicando el crecimiento de las aves (Newman, citado por Zambrano y otros, 2017).

La meta de un programa de salud intestinal es el promover y mantener una estructura intestinal

adecuada y una microflora saludable que tenga un impacto directo en la productividad (Torrealba, 2017). Existen varios factores que pueden causar la alteración de la integridad intestinal, principalmente el crecimiento de patógenos que ocasionan enteritis bacteriana, destrucción de células y disminución de la actividad enzimática. Por ello, para una producción rentable y sana, es vital poder controlar a los patógenos y buscar mecanismos que puedan ayudar a proteger la integridad intestinal, así como el mejor aprovechamiento de los nutrientes, a través de potenciar la actividad enzimática (Faus, 2008).

Muchas investigaciones están destinadas a probar diversos aditivos en la dieta, que puedan prevenir enfermedades entéricas y mejorar el rendimiento productivo de las aves; entre estas alternativas están el uso de antibióticos como promotores de crecimiento, probióticos, prebióticos, nutraceuticos, entre otros (Fernandes *citado por* Sánchez, 2018). Los antibióticos promotores del crecimiento se han venido utilizando en los programas de salud intestinal durante muchos años, ya que pueden controlar a los microorganismos patógenos, como *Clostridium sp.*, causante de enterocolitis necrosante. El uso de antibióticos, por generar problemas de resistencia bacteriana, ha sido prohibidos en muchas partes del mundo, por ello se realizan constantes investigaciones para buscar una mejor alternativa. Entre estas alternativas están los prebióticos, que estimulan el crecimiento o la

actividad de uno o más tipos de tipos de bacterias, y que se utilizan en el alimento para ayudar a promover la salud intestinal, adhiriéndose a ciertas bacterias patógenas como *E. coli* y *Salmonella spp.* previniendo así su adhesión a las paredes del intestino (Timothy, 2017). También se utilizan las bacterias probióticas, que, por exclusión competitiva, realizan un bloqueo físico de la colonización de patógenos oportunistas, evitando su adhesión, o produciendo cambios en el microambiente intestinal que afecten a la supervivencia de los patógenos. (Rosmini y otros, 2004).

Por otro lado, se ha demostrado que el uso de pronutrientes como los nutraceuticos, contribuyen a mantener la integridad intestinal, junto con los efectos sistémicos positivos en la salud del ave y mejora de su desempeño. Las categorías de pro nutrientes incluyen; antimicrobianos, enzimas, ácidos, oligosacáridos, extractos de plantas, aceites esenciales antioxidantes, pigmentos, etc. Estos compuestos adheridos a la dieta pueden proteger el epitelio intestinal, mejorar la digestión, absorción, inmunomodulación, e inflamación (Torrealba, 2007), y como consecuencia un mayor aprovechamiento de los nutrientes, mejor crecimiento, ganancia de peso y desempeño productivo de las aves.

5.3 Generalidades sobre *Polygonum hydropiperoides*

Las especies del género *Polygonum* (Polygonaceae) son consideradas como plantas invasoras, pues crecen en sistemas de cultivo utilizados por el hombre, desde áreas agrícolas especialmente húmedas, hasta en parcelas y jardines de centros urbanos (Macedo, 1995). Son combatidas con el pretexto de ser perjudiciales para los cultivos; sin embargo, culturalmente suelen ser utilizadas como medicina natural especialmente por sus propiedades antiinflamatorias (Jácome y otros, 2003), para la desinfección de heridas, el cuidado posparto y las infecciones del tracto urogenital (Bussmann y otros, 2008).

Dentro de este género, las principales especies son *Polygonum acre*, *Polygonum spectabile*, *Polygonum acuminatum*, *Polygonum hydropiper* y *Polygonum hydropiperoides* (Macedo, 1995); ésta última es conocida en el Perú como “Pica” (Bussmann y otros, 2008), y en Brasil como “pimienta de agua” o “hierba bicho”, este nombre popular surgió del hecho de creer que las hemorroidales eran causadas por un “bicho” combatido con el decocto de esas plantas (Correa citado por Jácome y otros, 2003). Esta especie ha sido utilizada en la medicina tradicional como antidiarreica, anti-hemorroidal, astringente, antisépticas de uso tópico y antidisentéricas; acciones que son atribuidas a sus principios activos como nutraceuticos, principalmente a sus elevados contenidos de taninos y flavonoides (Duarte y otros, 1995). Los principios activos son sustancias que se encuentran en distintas partes de las plantas y que pueden intervenir en el funcionamiento de órganos y sistemas del cuerpo humano y animal. Los grupos más importantes de este grupo son los ácidos fenólicos o fenoles, las cumarinas, los flavonoides, los lignanos, los taninos y las quinonas (Arraiza, 2009).

Estudios realizados en Brasil (Duarte y otros, 1995) para establecer la clasificación fitoquímica de *P. hydropiperoides* realizada con el extracto hidroalcohólico a 70% de sus partes aéreas, determinaron la presencia de polifenoles, taninos condensados, flavonoides, proantocianidinas, saponinas, esteroides y tripterpenos, estableciendo que el contenido de taninos varía de 6 a 10%; además, un 11,73% de polifenoles totales, entre los que se encuentran los flavonoides, promedios más altos que las otras dos especies del mismo género estudiadas. De igual manera, investigaciones realizadas por Jácome y otros (2003) en tres grupos de *P. hydropiperoides*, recogidos en diferentes áreas y situaciones de estrés; indicaron la presencia de esteroides, polifenoles, taninos condensados, flavonoides, cumarinas y saponinas; determinando que los contenidos de polifenoles totales, taninos y flavonoides diferían en las tres muestras de *P. hydropiperoides*, observándose valores de 5,0%; 4,0% y 0,6% para dos de ellas y 12,5%; 11,3% y 0,3% para la otra, pudiéndose observar un incremento del 80% del contenido de flavonoides en la muestra cosechada en primavera, esta diferencia podría estar relacionada con estrés ambiental que sufre la planta.

El efecto de los principios activos en hojas de *P. hydropiperoides* como flavonoides, cumarinas y

taninos fue investigado por Oliveira (citado por Jácome, 2003), demostrando una acentuada actividad antiedematogénica en ratones, a las dosis de 250 y 500 mg / kg, por vía intraperitoneal. A su vez, estudios realizados por Furuta y otros (1986), aislaron una variante de isocumarina, conocida como poligónida, que muestra un efecto inhibitorio sobre la reacción de Arthus (RPAR) en ratas mediante su administración oral; este tipo de hipersensibilidad representa un modelo agudo de inflamación inducida por inmunocomplejos; determinándose el potencial de este principio activo de convertirse en un prototipo para desarrollar un nuevo agente antiinflamatorio. Investigaciones más recientes realizadas por Bussmann y otros (2008) demostraron la capacidad antimicrobiana de *P. hydropiperoides*, ya que generaba un halo de inhibición de 9mm para *S. aureus*.

Todas estas investigaciones, comprobaron que entre los principales componentes del *P. hydropiperoides* de importancia como principios activos de uso medicinal, están los flavonoides y taninos. Los flavonoides son los pigmentos amarillos derivados de la fenil-benzopirona o fenil-cromona (Arraiza, 2009), que comprenden un amplio grupo de compuestos polifenólicos que aparecen de forma espontánea en diversas plantas (Ballester y otros, 2006), ejerciendo funciones metabólicas en el crecimiento y reproducción, y en la protección contra patógenos externos y el estrés, como la radiación UV (Peñarrieta y otros, 2014) y una eficaz actividad antioxidante. De todos ellos, los que tienen mayor interés farmacológico son dentro del grupo de los flavonoides: flavonas, flavonoles y flavononas y sus correspondientes heterósidos y los antocianósidos (Arraiza, 2009), por tener una actividad biológica importante, como antibióticos, antiparasitarios, antiinflamatorios (Peñarrieta y otros, 2014), además de presentar actividad captadora de radicales libres (Arraiza, 2009).

Estudios han propuesto la posible aplicación de los flavonoides en el tratamiento de la enfermedad inflamatoria intestinal, mejorando los estados de diarrea aguda y crónica a través de la inhibición de la secreción y motilidad intestinal y reduciendo el daño inflamatorio crónico en el intestino, protegiéndolo del estrés oxidativo y preservando la función de la mucosa (Ballester y otros, 2006). Tres flavonoides hidrófilos se aislaron e identificaron a partir de las hojas de *P. hydropiperoides* como quercetina 3-sulfato, isorhamnetin 3,7-disulfato y tamarixetin 3-glucósido-7-sulfato, evaluando su efecto sobre la generación de anión superóxido, demostrando sus propiedades antioxidantes, antiinflamatorias, antigenotóxica y antihiper glucémica (Peñarrieta y otros, 2014) y su efecto sobre la actividad antiinflamatoria en las fases aguda y semicrónica del proceso inflamatorio intestinal (Ballester y otros, 2006). Los taninos condensados, otro principio activo de *P. hydropiperoides*, son sustancias polifenólicas hidrosolubles no nitrogenadas (Arraiza, 2009), se encuentran como monómeros, así como unidades estructurales en las cadenas que van desde proantocianidina catequina y/o dímeros derivados de catequina a polímeros de mayor tamaño (Peñarrieta y otros, 2014) Se encuentran en las raíces, la corteza, y las hojas de la planta (Arraiza, 2009). Son parte de la protección de las plantas contra las infecciones y los herbívoros (Peñarrieta y otros, 2014), además tienen propiedades antibacterianas, astringentes y

antisépticas (Arraiza, 2009), y se consideran prometedores para su uso como aditivos naturales en la elaboración de alimentos. Los taninos se clasifican en tres grupos según su estructura química: condensada, hidrolizables y complejos (Peñarrieta y otros, 2014).

VI. HIPÓTESIS

El uso del extracto etanólico de *Polygonum hidropiperoides* (PHPP) en dietas de pollos de engorde, controla el crecimiento de bacterias patógenas intestinales, mejora la estructura intestinal y la actividad de las enzimas digestivas intestinales conllevando a un mejor comportamiento productivo y rentabilidad.

VII. METODOLOGÍA

7.1. Ensayo Experimental I: Determinación de Concentración Mínima Inhibitoria Del Extracto Etanólico de *P. Hydropiperoides*

7.1.1. Animales

Se utilizarán 4 pollitos con signos de enfermedad intestinal.

7.1.2. Diseño metodológico

En esta primera parte se aislarán e identificarán bacterias patógenas productoras de enfermedad intestinal, mediante cultivo de contenido intestinal. Luego se procederá al cultivo de los microorganismos enfrentados a 10 diferentes concentraciones de extracto etanólico de PPD, y se evaluará el efecto inhibitorio en el crecimiento de los mismos, y la concentración mínima inhibitoria.

7.1.3. Tratamientos

Los tratamientos consistirán en el uso de 10 diferentes concentraciones de extracto etanólico de *Polygonum hidropiperoides* (PHPP)

PP0 : Solución de agua destilada sin extracto de PHPP

PP10: Solución de 10mg/ml de extracto etanólico de PHPP

PP20: Solución de 20mg/ml de extracto etanólico de PHPP

PP30: Solución de 30mg/ml de extracto etanólico de PHPP

PP40: Solución de 40mg/ml de extracto etanólico de PHPP

PP50: Solución de 50mg/ml de extracto etanólico de PHPP

PP60: Solución de 60mg/ml de extracto etanólico de PHPP

PP70: Solución de 70mg/ml de extracto etanólico de PHPP

PP80: Solución de 80mg/ml de extracto etanólico de PHPP

PP90: Solución de 90mg/ml de extracto etanólico de PHPP

PP100: Solución de 100mg/ml de extracto etanólico de PHPP

7.1.4. Variables dependientes

- Diámetro de halo de inhibición
- Concentración mínima inhibitoria

7.5.1. Metodología:

7.5.1.1. Preparación de extracto etanólico

Las hojas seleccionadas de *Polygonum hydropiperoides* serán secadas en estufa a 40 °C durante 24 horas. Posteriormente se realizará la molienda del material vegetal seco en un molino artesanal hasta pulverizar todo el material. A partir del polvo obtenido se pesarán 50 g y se colocará en un frasco de vidrio de capacidad de 1000 ml cubierto con papel aluminio para proteger el preparado de luz, luego se le agregará el solvente extractor que consistirá en etanol absoluto y se procederá a la obtención del extracto etanólico mediante el método de maceración en agitación constante durante siete días. Después de los siete días de maceración el producto será filtrado 3 veces, primero con papel filtro Whatman N° 41, y posteriormente con papel filtro Whatman N° 2 y N° 1 con lo que se obtendrá el extracto filtrado. Dicho extracto se llevará a sequedad en Rotavapor, obteniéndose el extracto seco, el cual será pesado y colocado en papel de aluminio quedando listo para su uso.

7.5.1.2 Preparación de las concentraciones del extracto etanólico de hojas de *Polygonum hydropiperoides*: A partir del extracto seco, se realizarán diluciones en etanol obteniéndose

concentraciones de 10 mg/mL; 20 mg/mL; 30 mg/mL; 40 mg/mL; 50 mg/mL; 60 mg/mL; 70 mg/mL; 80 mg/mL; 90 mg/mL y 100 mg/mL. Cada concentración será colocada en un vial estéril y tapado herméticamente y en refrigeración hasta el momento de su utilización.

7.5.1.3. Cultivo, Aislamiento e identificación de bacterias entéricas patógenas

Después del sacrificio, se realizará la toma de muestras microbiológicas (materia fecal) con hisopos estériles en cada una de las secciones para el trabajo: Intestino delgado (Duodeno, yeyuno e íleon), ciegos y colon. Una vez tomadas las muestras se procederá a sembrarlas en los siguientes medios de cultivo: Plate Count (Bacteria Entéricas), EMB (Coliformes Totales), ROGOSA (Bacterias Ácido Lácticas), Bismuto Sulfito (BS) y caldo enriquecido selectivo de Tetrationato con el fin de promover el crecimiento de *Salmonella* para su posterior identificación en el medio Bismuto Sulfito. Luego de la siembra se realizarán pruebas bioquímicas para la identificación de las bacterias patógena

7.5.1.4. Evaluación de la actividad antibacteriana -Difusión en Agar con disco:

A partir de la suspensión bacteriana estandarizada y dentro de los 15 minutos posteriores a su preparación se procederá a sembrar en superficie con un hisopo estéril placas con agar Mueller Hinton. Para ello se introducirá un hisopo en el tubo donde se preparó la suspensión bacteriana, inmediatamente después se inoculará la superficie seca del agar por hisopado en tres direcciones contrapuestas con lo que se asegurará una completa distribución de la bacteria en toda la superficie del agar. Las placas sembradas serán colocadas en la estufa a 37° C durante 10 minutos para asegurar el secado de la misma. Posteriormente se colocarán 3 discos de 6 mm de diámetro conteniendo cada uno 25 µL de cada concentración de previamente preparado y las soluciones experimentales que actúan como control (Agua destilada, etanol), luego se incubarán a 37° C durante 24 horas, pasadas las cuales se procederá a examinar cada placa, midiendo con un vernier los diámetros de las halos de inhibición (zona de inhibición) y los resultados fueron expresados como diámetro (mm) de halo de inhibición.

7.5.1.5. Lectura de Resultados: Concentración mínima inhibitoria (MIC)

Se procederá a medir los halos de inhibición bacteriana de los discos con la concentración de extracto evaluada que lo presenten en ambas plantas evaluadas. La medición se realizará con un vernier milimétrico.

Las pruebas se realizarán por duplicado para cada cepa y extracto ensayado. La presencia de un halo de inhibición definido alrededor del pocillo con extracto indicó actividad antibacteriana positiva.

La lectura de las placas se realizó después de 24 horas. Se midieron tres diámetros de cada halo de inhibición empleando un vernier. Los valores obtenidos se promediaron hallándose el diámetro promedio que fue utilizado como índice de actividad antibacteriana

7.5.1.6. Análisis estadístico

Se realizará un análisis de varianza (ANOVA) a los datos obtenidos para determinar si hubo diferencias significativas en el efecto inhibitorio entre las concentraciones del extracto evaluadas así como con el tratamiento control.

7.2. ENSAYO II: EVALUACIÓN DE LA INTEGRIDAD Y ACTIVIDAD ENZIMÁTICA INTESTINAL Y DESEMPEÑO PRODUCTIVO DE LAS AVES

7.2.1. Lugar de ejecución de la investigación

El experimento se realizará en una unidad diseñada para experimentación en pollos, ubicada en el Campus II de la Universidad Privada Antenor Orrego, Trujillo, bajo condiciones de clima de la costa de la región La Libertad. La estructura y las enzimas intestinales se medirán en el Laboratorio de Fisiología animal y de Proteómica, respectivamente.

7.2.2. Instalaciones

Se utilizará un galpón destinado para crianza de pollos construido a base de concreto, laterales de malla, postes de madera y techo de planchas de fibra; en el interior del cual se instalarán corrales de 1.0 m² confeccionados con malla de pescador y cama de pajilla de arroz donde se colocarán los pollos al momento de la recepción.

7.2.3. Animales y alimentación

Se utilizarán 160 pollos BB machos de la línea Cobb 500 de un día de nacidos, los mismos que serán alojados en corrales donde recibirán los tratamientos, así como similares condiciones de ambiente y manejo; y serán sometidos a desafío. Se formarán grupos de 8 aves por cada corral y serán distribuidos para cada tratamiento; 32 animales servirán para evaluar estructura y actividad enzimática intestinal, 16 a los 7 días y 16 a los 28 días.

El suministro de alimento será diariamente y consistirá en colocar alimento balanceado, de acuerdo al tratamiento, en cada corral. Las dietas serán ofrecidas según los requerimientos nutricionales para cada fase de crianza: inicio (1–7 días), crecimiento (8-21 días), engorde (22–33 días) y acabado (34-42 días). La formulación del alimento se realizó de acuerdo a las recomendaciones de las tablas Brasileñas para pollos y cerdos (Rostagno y otros, 2017).

7.2.4. Diseño metodológico

En la investigación se evaluará la influencia de la adición del extracto etanólico de *Polygonum hydropiperoides* en el alimento balanceado de pollos. En un grupo de aves se medirá la estructura

intestinal y la actividad enzimática a los 7 y 28 días. En las aves restantes, se evaluará el comportamiento productivo y la rentabilidad.

7.2.5. Tratamientos

Los Tratamientos se establecerán teniendo en cuenta los resultados del primer ensayo, consistirán en cuatro, incluyendo el grupo testigo.

7.2.6. Variables dependientes

a. Indicadores de performance

- § Consumo diario de alimento (CDA, g)
- § Ganancia diaria de peso (GDP, g)
- § Conversión alimenticia (CA, g/g).

b. Indicadores de estructura intestinal y actividad enzimática

- § Altura de vellosidades (um)
- § Profundidad de criptas (um)
- § Actividad enzimática (UA) de maltasa (EC 3.2.1.20), sacarasa (EC 3.2.1.48) y dipeptidasa (EC 3.14.13.11).

7.2.7. Metodología para determinar indicadores de performance

Consumo diario de alimento, ganancia diaria de peso y conversión alimenticia, serán calculados a partir de los datos de peso vivo y consumo de alimento que se registren quincenalmente.

7.2.8. Metodología para indicadores de estructura intestinal y actividad enzimática

4 animales por tratamiento, correspondiente a un animal por 4 repeticiones, a los 7 y 28 días después de iniciado el experimento serán sacrificados para realizar la colecta de muestras de intestino delgado para evaluar la estructura intestinal y la actividad de las enzimas digestivas. Para ello se realizará una incisión longitudinal ventral. El intestino será medido y pesado, posteriormente serán colectadas porciones craneal y medio (segmentos 25 y 50 %).

Para **estructura intestinal**, los segmentos de intestino serán lavados con solución salina helada al 0,9%, abiertos en sentido longitudinal y colocados en solución de formol para su conservación hasta procesarlas para confeccionar los cortes en láminas y posterior medición de estructuras a través de microscopio acoplado a cámara digital.

Para **actividad enzimática**, los segmentos de intestino serán lavados con solución salina helada al 0,9%, abiertos en sentido longitudinal, empaquetados en papel aluminio, rotulados, colocados

en nitrógeno líquido y luego en freezer a -20°C para su conservación hasta procesarlas para determinar la actividad de las enzimas.

7.2.7. Metodología para determinación de actividad enzimática

Las actividades de sacarasa (EC 3.2.1.48 Sucrosa -D-Glucohydrolase) y maltasa (EC 3.2.1.20 - Glucosidase) serán determinadas a través de los niveles de glucosa liberada en la hidrólisis de los sustratos sacarosa y maltosa, respectivamente por las enzimas presentes en el extracto bruto de mucosa (EBM). La reducción de la glucosa será medida a 500 nm, siguiendo la metodología de Kidder y Manners (1980) y adaptada por Castillo et al. (2013).

La actividad de la dipeptidasa (EC 3.14.13.11) en la mucosa intestinal será determinada usando como sustrato dipéptido L-leucilglicina (LEU-GLI). En este método la leucina es liberada y transformada por la L-aminoácido oxidasa (EC 1.4.3.2) en peróxido de hidrógeno. Finalmente, la oxidación de o-dianisidina por el peróxido de hidrógeno será determinada a 530 nm en espectrofotómetro; de acuerdo a la metodología descrita por Nicholson y Kim (1975) y adaptada por Castillo (1999).

7.2.8. Análisis estadístico

Las aves serán distribuidas en los corrales a través de un diseño completo al azar (DCA), con cuatro tratamientos y cinco repeticiones; cada unidad experimental estará compuesta por 8 animales al inicio del experimento

Los resultados de cada variable evaluada, se analizarán mediante el análisis de variancia de la regresión (Stell y Torrie, 1985), usando el programa estadístico Infostat. El modelo matemático será:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + E_{ij}$$

Donde:

Y_{ij} = Observación cualquiera, que corresponde al i-ésimo tratamiento.

μ = Media general o media poblacional

T_i = Efecto del extracto etanólico de *Polygonum hydropiperoides*

E_{ij} = Error Experimental.

VIII. BIBLIOGRAFÍA

Arraiza, C. 2009. Los principios activos de las plantas medicinales y aromáticas. Madrid, España. %5BEn línea%5D: Universidad Politécnica de Madrid, (<http://ocw.upm.es/ingenieria-agroforestal/uso-industrial-de-plantas-aromaticas-y-medicinales/contenidos/material-de-clase/tema6.pdf>. 2 mar. 2019).

Avellaneda, Y., Hernández, J., Ariza, C. y Afanador T. 2008. Efecto de la suplementación de L-glutamina y L-glutamato (aminogut®) sobre el crecimiento temprano de pollos de engorde. Rev. Med. Vet. Zoot, 55:77-90.

Ballester I., Camuesco D., Galvez J., Sanchez De Medina F. Y Zarzuelo A. 2006. Flavonoides y enfermedad inflamatoria intestinal. Ars Pharmaceutica, 47 (1): 5-21.

Contreras, S., Gutiérrez, N., Osorio, L. 2018. Boletín estadístico mensual de la producción y comercialización avícola. Sistema Integrado de Estadística Agraria, Lima, Perú. Boletín técnico, 1:36.

Bartell, B. 2007. The Effect of Supplemental Glutamine on Growth Performance, Development of the Gastrointestinal Tract, and Humoral Immune Response of Broilers. Poultry Science, 86: 1940-1947

Bayley, R. 2013. Salud intestinal en aves domésticas. Selecciones avícolas, 2015:18-22

Burgos, C. 2018. Perú: mayor consumidor de pollo en Latinoamérica. Perú. %5BEn línea%5D: Industria Avícola, (<https://www.industriaavicola.net/mercados-y-negocios/peru-mayor-consumidor-de-pollo-en-latinoamerica/>, 1 mar. 2019)

Bussmann, R., Sharon, D., Perez, F., Díaz, D., Ford, T., Rasheed, T. y Silva, R. 2008. Antibacterial activity of northern-peruvian medicinal plants. Arnaldoa, 15(1): 127 – 148

Cañedo, B. 2017. Evaluación de las propiedades nutraceuticas de Ulva rigida en pollo de engorda. Maestría en Manejo de Recursos Marinos Thesis, Instituto Politécnico Nacional. Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas. México. %5BEn línea%5D: (<https://www.repositoriodigital.ipn.mx/handle/123456789/25019>, 11 mar,2019).

Cervantes, Héctor. Integridad intestinal en aves. 2011. %5BEn línea%5D: (http://www.wattagnet.com/Integridad_intestinal_en_aves.html, 2 may, 2019)

Del Carpio, S. 2015. Sustitución de farmacéuticos por nutraceuticos en la alimentación de pollos de carne. Rev. Inv. Cult, 4(2): 70-80.

Domínguez, I. 2015. Influencia de la Integridad Intestinal sobre el rendimiento y la rentabilidad aviares. AviNews, Mayo 2015: 107-113

Duarte, M., Brandão, M., Soares, I., Jácome, R., Oliveira, A. 1995. Farmacoquímica de plantas daninhas de uso medicinal – I - Estudos farmacoquímicos de espécies de *Polygonum*: *Polygonum hydropiperoides* Mich., *Polygonum spectabile* Mart. e *Polygonum acuminatum* H.B.K. *Daphne: Revista do Herbário PAMG*, 5(4):59–62

Furuta, T., Fukuyama, Y., Asakawa, Y. 1986. Polygonolide, a isocoumarin from *Polygonum hydropiper* possessing anti-inflammatory activity. *Phytochemistry*, 25(2):517-520

Faus, C. 2008. La integridad intestinal: factores asociados a su mantenimiento. Selección Avícola, Junio 2008, 11-16.

Jácome, R., Lopes, D., Recio, R., Macedo, J., y De Oliveira, A. 2003. Pharmacognostic characterization of *Polygonum hydropiperoides* Michaux and *P. spectabile* (Mart.) (Polygonaceae). *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 14: 21-27.

Macedo, J. Fenologia da floração das plantas invasoras no campus-Pampulha da UFMG.1995. *Daphne: Rev. do Herbário PAMG*, 5 (4): 15-27.

MINAGRI. 2019. Boletín estadístico mensual de la producción y comercialización de productos avícolas: Diciembre 2018. Perú.

MINAGRI. 2019. Boletín estadístico mensual de la producción y comercialización de productos avícolas: Diciembre 2018. Perú.

Peñarrieta, M., Tejeda, L., Mollinedo, P., Vila, J.; Bravo, J. 2014. Compuestos fenólicos y su presencia en alimentos. *Revista Boliviana de Química*, 31(2): 68-81.

Rosmini, M., Sequeira, G., Guerrero-Legarreta, I., Martí, L., Dalla-Santina. R., Frizzo, L. y Bonazza, J. 2004. Producción de probióticos para animales de abasto: importancia del uso de la microbiota intestinal indígena. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 3: 181-191.

Rostagno, H., Teixeira, L., Hannas, M., Donzele, J., Sakomura, N., Perazzo, F., Teixeira, M., Rodrigues, P., Oliveira, R., Toledo, S. y Oliveira, C. Tablas brasileñas para aves y cerdos. *Universidad federal de vicosa*, 4: 292

Sánchez, L. 2018. Importancia: de la Integridad Intestinal y uso de probióticos en gallinas de postura. *Avinews*, Oct 2018: %5BEn línea%5D: (<https://avicultura.info/importancia-de-la-integridad-intestinal-y-uso-de-probioticos-en-postura/>, 10 mar,2019).

Tavernari, F., Salguero, S., Albino, L. & Rostagno, H. 2008. Nutrición, patología y fisiología digestiva en pollos: Aspectos prácticos. Departamento de Zootecnia. Universidad Federal de Vicosa. Vicosa. Brasil. XXIV Curso de especialización FEDNA, 31-45.

Timothy, S. 2017. Salud intestinal: Un gran desafío para la producción avícola. México. %5BEn línea%5D: (<https://www.avicultura.mx/destacado/Salud-intestinal%3A-Un-gran-desafio-para-la-produccion-avicola>. 1 mar. 2019).

Torrealba, H. 2007. Estrategias alimenticias que influyen la microflora bacteriana. Ecuador. %5BEn línea%5D: Alltech- Ecuador, (http://amevea-ecuador.org/web_antigua/datos/Hector_%20Torrealba.PDF. 3 mar. 2019

Yagi, A., Venura, T., Okamera, N., Haraguchi, H., Inoto, T., Hashimoto, K. 1994. Antioxidative sulphated flavonoids in leaves of *Polygonum hydropiper*. *Phytochemistry*, 35(4):885-888.

Zambrano R., Gómez J., Rodríguez J., Alvarado, H., Quezada, L., Hurtado, W., Ponce, E., Avellaneda, J. 2017. Evaluación De Tres Niveles De Mananos Oligosacáridos (*Sacharomices Cerevisae*) En Los Parámetros Productivos Y Salud Intestinal En Pollos De Engorde En El Cantón Babahoyo, Provincia De Los Ríos, Ecuador. *European Scientific Journal*, 13(12):24.

CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES

ACTIVIDAD	INICIO	FIN
Informe Parcial del Proyecto	01/06/2019	28/02/2020
INFORME PARCIAL DEL PROYECTO	01/06/2019	28/02/2020
Acondicionamiento de la unidad experimental para la ejecución del experimento	20/06/2019	20/07/2019
Desarrollo de la fase experimental y toma de datos en campo	22/07/2019	31/10/2019
Análisis de laboratorio y determinación de actividad enzimática	01/11/2019	28/02/2020
INFORME FINAL DEL PROYECTO	01/03/2020	30/06/2020
Informe Final del Proyecto	01/03/2020	30/06/2020
Procesamiento y análisis de datos	02/03/2020	01/04/2020
Redacción del artículo científico	01/05/2020	20/06/2020

PRESUPUESTO			
DESCRIPCION	CANTIDAD	PRECIO UNITARIO	PRECIO PARCIAL
Equipo	1 UNI	7862	7862
MATERIAL DE VIDRIO	1 UNI	160	160
REACTIVOS E INSUMOS	1 UNI	300	300
REACTIVOS E INSUMOS	1 UNI	40	40
REACTIVOS E INSUMOS	1 UNI	40	40
REACTIVOS E INSUMOS	1 UNI	270	270
TRANSPORTE LOCAL	1 UNI	80	80
MATERIAL DE VIDRIO	20 UNI	1.50	30
MATERIAL DE VIDRIO	1 UNI	124.74	124.74
REACTIVOS E INSUMOS	1 UNI	335	335
REACTIVOS E INSUMOS	1 UNI	92	92
REACTIVOS E INSUMOS	1 UNI	2800	2800
Alimento	800 KG	1.80	1440
REACTIVOS E INSUMOS	1 UNI	260	260
REACTIVOS E INSUMOS	1 UNI	422	422
REACTIVOS E INSUMOS	1 UNI	1761.70	1761.70
Material biológico (Animales experimentación)	160 UNI	2.50	400
Material biológico (Animales experimentación)	4 UNI	14	56
REACTIVOS E INSUMOS	1 UNI	422	422
REACTIVOS E INSUMOS	1 UNI	40	40
MATERIAL DE VIDRIO	1 UNI	50	50
REACTIVOS E INSUMOS	1 UNI	1476	1476
REACTIVOS E INSUMOS	1 UNI	918	918
OTROS	1 UNI	80	80
OTROS	64 UNI	6	384
MATERIAL DE VIDRIO	20 UNI	7.80	156
Total 19999.44			