


**Respuesta de anticuerpos a la vacunación contra Newcastle y productiva en pollitos suplementados con dosis crecientes de un extracto de *Larrea tridentata***



Juan Carlos García-López <sup>a</sup>

Juan Manuel Pinos-Rodríguez <sup>b\*</sup>

Jorge Genaro Vicente-Martínez <sup>b</sup>

Samuel López-Aguirre <sup>b</sup>

Angélica Olivares-Muñoz <sup>b</sup>

Francisco Fabián Vanoye-Lara <sup>b</sup>

<sup>a</sup> Universidad Autónoma de San Luis Potosí. Instituto de Investigación de Zonas Desérticas, Altair 200, Fraccionamiento del Llano, C.P. 78377, San Luis Potosí, México.

<sup>b</sup> Universidad Veracruzana. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Veracruz, México.

\* Autor de correspondencia: [jpinos@uv.mx](mailto:jpinos@uv.mx)

**Resumen:**

El objetivo fue evaluar el efecto del extracto acuoso de gobernadora (*Larrea tridentata*) sobre el desempeño productivo, perfil hematológico, recuento de células blancas, peso de los órganos y títulos de anticuerpos contra la enfermedad de Newcastle en pollos de engorde. 600 pollitos raza Cobb de 1 día de edad fueron asignados a los siguientes tratamientos: 0, 5, 10, 15, 20 y 25 mg de un extracto acuoso de gobernadora por kg de alimento. El consumo de alimento, la ganancia de peso y la tasa de conversión alimenticia fueron registrados y analizados. Además, se hizo un recuento de las células leucocitarias, se evaluaron títulos de anticuerpos contra Newcastle y se registró el peso del timo, bazo y bolsa de Fabricio. Las

ganancias de peso fueron mejoradas ( $P<0.05$ ) con los extractos de gobernadora comparadas con el testigo, mientras que la mejor tasa de conversión alimenticia ( $P<0.05$ ) fue con 15 mg del extracto. El recuento leucocitario y el peso de los órganos no fueron afectados por el extracto. Los títulos contra Newcastle más altos ( $P<0.05$ ) fueron encontrados con 15 mg del extracto de gobernadora. Se concluye que un extracto acuoso de gobernadora a dosis de 15 mg por kg de alimento es una alternativa para mejorar la respuesta inmune y por tanto la ganancia de peso en pollitos de engorda.

**Palabras clave:** Anticuerpos, Enfermedad de Newcastle, Órganos, Gobernadora, *Larrea tridentata*.

Recibido: 14/05/2024

Aceptado: 09/10/2024

## Introducción

Los antibióticos como promotores del crecimiento se han utilizado durante décadas en el pollo de engorde comercial industrial con excelentes parámetros de producción. Como resultado estos antibióticos son los principales factores de resistencia a los antimicrobianos que producen en muchas bacterias patógenas. Esta ha sido una razón de cuestionamiento de los consumidores de varios países sobre la inocuidad de la carne y el huevo de aves<sup>(1)</sup>. En este sentido, el uso de antibióticos como promotores del crecimiento ha sido prohibido en algunos países. Al mismo tiempo, se han realizado otras investigaciones para buscar alternativas. Por ejemplo, los extractos de plantas han recibido atención como posibles reemplazos como promotores del crecimiento<sup>(2)</sup>. Se ha demostrado que la incorporación de plantas medicinales a la dieta puede proporcionar efectos beneficiosos sobre el rendimiento y la salud de las aves de corral, debido a la actividad antimicrobiana de sus fitocompuestos<sup>(3)</sup>. El uso de los compuestos antimicrobianos obtenidos de fuentes naturales ha ido ganando buena impresión de la opinión pública<sup>(4)</sup>.

La gobernadora, arbusto de creosota o chaparral (*L. tridentata*), es una planta arbustiva perteneciente a la familia *Zygophyllaceae*, que domina el desierto del suroeste de Estados Unidos y el centro-norte de México<sup>(5)</sup>. El té elaborado con hojas de gobernadora se ha utilizado en la medicina tradicional para tratar trastornos digestivos, reumatismo, enfermedades venéreas, llagas y resfriado común<sup>(6)</sup>. Los estudios fitoquímicos realizados con gobernadora indican que contiene lignanos, flavonoides, taninos condensados, triterpenos saponinas y nafta quinonas<sup>(5)</sup>, los cuales poseen propiedades antioxidantes, anti-VIH, antimicrobianas y enzimáticas actividades inhibitoras y antitumorales<sup>(7,8)</sup>. En la resina y cera

que cubre las hojas de gobernadora se encontraron 19 agliconas flavonoides, así como varios lignanos, en particular el ácido nordihidroguaiarético (NDGA), un lignano fitoquímico natural extraído del arbusto con propiedades como antitumoral, anticancerígeno, antioxidante fenólico por inhibir la 5-lipoxigenasa, del ácido araquidónico y la biosíntesis del tromboxano A<sub>2</sub><sup>(9)</sup>; además, se han aislado flavonoides glicosilados, sapogeninas, aceites esenciales y alcaloides halogénicos<sup>(10)</sup>.

Las características hematológicas o hemogramas de las aves son importantes como predictores de la salud, debido a que un buen equilibrio entre las células hemáticas puede mejorar la respuesta inmunológica y productiva de las aves<sup>(11)</sup>. Por lo anterior, es pertinente investigar los efectos de la gobernadora en estos indicadores. El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto de un extracto de gobernadora (*Larrea tridentata*) en la dieta, sobre el desempeño productivo y respuesta de anticuerpos de pollos de engorda.

## Material y métodos

Las hojas de gobernadora (*Larrea tridentata*) fueron recolectadas en el mes de diciembre, correspondiente a la época de estiaje en el municipio de Matehuala (latitud: 23.6667 y longitud: -100.583), en el estado de San Luis Potosí. Este sitio del Altiplano Potosino-Zacatecano se caracteriza por ser plano, con suelo calcáreo arcilloso y con evidencias de perturbación-sucesión secundaria de matorral desértico micrófilo a *L. tridentata*, por abandono de cultivo de maíz. Los especímenes de gobernadora fueron identificados taxonómicamente por especialistas del Herbario Isidro Palacios del Instituto de Investigaciones de Zonas Desérticas de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí. Las hojas se recolectaron aleatoriamente de 10 arbustos maduros con una altura mínima de 1 m y con abundante follaje. De cada arbusto se recolectó aproximadamente un 10 % del total de sus hojas, para posteriormente conformar una muestra compuesta.

Las hojas se secaron bajo sombra hasta peso constante y se molieron en un molino Thomas 4 (Willey, Thomas Scientific, NJ, USA) hasta obtener un tamaño de partícula de 2 mm. Este material se mantuvo alejado de la luz a 22 °C para su posterior uso. Para la extracción se utilizó el proceso de infusión con agua desionizada, a una proporción de 30 ml de solvente por gramo de hoja, a 65 °C durante 40 min. La suspensión obtenida se filtró a través de papel Whatman grado 4, se concentró en un equipo de vacío a presión reducida a una temperatura de 38 °C durante 5 h (Gastrovac, GC2000, ICC, Barcelona, España) y se secó por liofilización (Labconco, 7400040, USA) hasta obtener muestras con un porcentaje de humedad de 7 %. El proceso se llevó a cabo por triplicado.

Los procedimientos con animales fueron revisados y supervisados por un Comité de Bioética de acuerdo con el Reglamento Oficial Mexicano sobre Especificaciones Técnicas en la

Producción, Mantenimiento y Uso de Animales de Laboratorio<sup>(12)</sup>. En un diseño completamente al azar, 600 pollitos de raza Cobb de 1-día de edad se asignaron a seis dietas experimentales con 0, 5, 10, 15, 20 y 25 mg de extracto acuoso de gobernadora (*L. tridentata*) por kilo de alimento. El extracto de planta en polvo se mezcló con la dieta. Los pollitos se alojaron en jaulas en batería para criadoras (Petersime Inc., Gettysburg, OH, USA) en una habitación con temperatura controlada (25 °C) bajo luz de 24 h. Todos los polluelos se inmunizaron a los 7 días de edad, vía ocular, con una gota de virus activo de Newcastle Cepa La Sota (Newcastle, BioZoo, Zapopan, Jalisco, MX).

Los pollos se alimentaron a libre acceso con agua fresca y limpia y alimento concentrado formulado para cumplir los requerimientos del NRC para pollos<sup>(13)</sup>. La dieta basal se elaboró con maíz amarillo 566.33 g/kg, pasta de soya 360.28 g/kg, 360.28 g/kg, aceite vegetal 28.35 g/kg, fosfato monodibásico 17.94 g/kg, carbonato de calcio 15.82 g/kg, cloruro de sodio 4 g/kg, DL-metionina 2.38 g/kg, L-lisina 1.75 g/kg, Colina 1.07 g/kg, vitaminas y minerales 5 g/kg y L-treonina 0.30 g/kg. La composición química de la dieta fue 21.73 % PC, 5.3 % grasa, 2.91 % fibra cruda, 6.66 % cenizas, calcio 1 %, fósforo 0.75 %, lisina 1.33 %, metionina 0.9 % y treonina 0.86 %.

El experimento duró 21 días. El consumo de alimento y los pesos inicial y final fueron registrados. Con esta información se calculó la ganancia de peso por día, total y el peso final. Con la ganancia total de peso y el consumo total de alimento se calculó la conversión de alimento. El día 22, a 20 aves de cada tratamiento, se les extrajo una muestra de sangre mediante punción cardíaca y colocó en tubos al vacío con anticoagulante (EDTA), para análisis.

El análisis hematológico se realizó mediante un recuento diferencial leucocitario en frotis que incluyó linfocitos, heterófilos, eosinófilos, monocitos y basófilos. El recuento de leucocitos se realizó mediante solución de Natt y Herrick a razón de 1:1200. Se dejó que la sangre diluida se mezclara durante 2 min antes de descargarla en un cámara hemacitómetro. El conteo de glóbulos blancos se realizó bajo objetivo de 40X del microscopio<sup>(14)</sup>. La respuesta inmune contra Newcastle se evaluó mediante un ensayo inmunoabsorbente (ELISA), utilizando el kit de prueba de anticuerpos para la enfermedad de Newcastle (IDEXX laboratorios Inc. Westbrook, MEO4092). Las muestras de suero fueron diluidas y dispensadas en las placas con control negativo y control positivo por duplicado siguiendo las recomendaciones de incubación, lavado y dispensado del fabricante. Las placas se leyeron por espectrofotometría a 650 nm de absorbancia (Multiskan FC, Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA, USA). Posteriormente a los pollos se les practicó eutanasia y se midió el peso final de los órganos linfoides como timo, bazo y bolsa de Fabricio.

Los datos se analizaron como un diseño completamente aleatorio para evaluar las seis dosis del extracto acuoso de gobernadora. Para ello, los pollos se ubicaron al azar en 10 criadoras

(60 pollitos por criadora) de seis niveles cada una (60 niveles con 10 pollos por nivel), de forma tal que se tuvieron 10 repeticiones (niveles) por tratamiento. El análisis de varianza se realizó con el procedimiento MIXED de SAS y las diferencias entre medias mediante la prueba de Tukey<sup>(15)</sup>. Los tratamientos (fijos) fueron la dosis de inclusión de los extractos de *L. tridentata* y la repetición (aleatoria).

## Resultados y discusión

La ganancia de peso diaria promedio, la ganancia de peso total y el peso final fueron mayores ( $P<0.05$ ) en los pollitos que consumieron los extractos acuosos de gobernadora en comparación con el testigo. La tasa de conversión alimenticia fue menor ( $P<0.05$ ), es decir, la mejor fue en los pollitos consumiendo alimento con 15 mg del extracto acuoso (Cuadro 1). En lo que respecta al perfil leucocitario, las diferentes dosis del extracto acuoso de gobernadora no modificaron este indicador, de la misma forma como para el peso del bazo, timo y la bolsa de Fabricio. Los valores del perfil leucocitario de encontraron dentro de los valores de referencia reportados para pollitos de la raza Cobb<sup>(16)</sup>. Sin embargo, los pollitos que consumieron alimento con el extracto acuosos de gobernadora a una dosis de 15 mg/kg tuvieron los mejores títulos de anticuerpos ( $P<0.05$ ) contra Newcastle en comparación con los que no recibieron el extracto (Cuadro 2).

**Cuadro 1:** Desarrollo productivo de pollos suplementados con extractos acuosos de *L. tridentata*

	Extracto <i>L. tridentata</i> , mg/kg						
	0	5	10	15	20	25	EEM
Peso inicial, g	42.02	42.14	42.04	42.08	41.96	41.78	1.14
Peso final, g	675.0 <sup>b</sup>	732.6 <sup>a</sup>	748.4 <sup>a</sup>	786.4 <sup>a</sup>	703.0 <sup>b</sup>	726.8 <sup>a</sup>	32.52
Ganancia peso total, g	633.0 <sup>b</sup>	690.5 <sup>a</sup>	706.3 <sup>a</sup>	744.3 <sup>a</sup>	661.0 <sup>b</sup>	685.0 <sup>a</sup>	47.82
Ganancia de peso diaria, g	30.14 <sup>b</sup>	32.88 <sup>a</sup>	33.63 <sup>a</sup>	35.45 <sup>a</sup>	31.48 <sup>b</sup>	32.62 <sup>a</sup>	1.19
Consumo total, g	1130.2 <sup>a</sup>	1020.4 <sup>a</sup>	966.0 <sup>b</sup>	990.6 <sup>b</sup>	1039.0 <sup>a</sup>	1016.2 <sup>a</sup>	66.24
Conversión de alimento	1.78 <sup>a</sup>	1.48 <sup>a</sup>	1.37 <sup>b</sup>	1.33 <sup>b</sup>	1.57 <sup>a</sup>	1.48 <sup>a</sup>	0.12

EEM= error estándar de la media.

<sup>ab</sup> Medias con literales distintas en línea son diferentes ( $P<0.05$ ).

**Cuadro 2:** Peso de órganos linfoides y títulos de anticuerpos contra Newcastle (TAN) en pollos suplementados con *L. tridentata*

	Extracto <i>L. tridentata</i> , mg/kg						EEM
	0	5	10	15	20	25	
Timo, g	1.37	1.30	1.31	1.37	1.39	1.36	0.174
Bazo, g	0.27	0.31	0.26	0.27	0.26	0.28	0.051
Bolsa de Fabricio, g	1.49	1.49	1.48	1.48	1.49	1.50	0.121
TAN, Log10	1.91 <sup>b</sup>	2.09 <sup>b</sup>	2.30 <sup>a</sup>	2.62 <sup>a</sup>	2.26 <sup>a</sup>	2.24 <sup>a</sup>	0.34

EE= error estándar de la media.

<sup>ab</sup> Medias con literales distintas en línea son diferentes ( $P < 0.05$ ).

A diferencia de las hojas utilizadas para el extracto acuoso del presente estudio, una investigación previa evaluó en pollitos una dosis de 20 mg/kg de un extracto acuoso de planta completa (hojas y tallos) de gobernadora y mostró también mejorías significativas en la ganancia de peso diaria y total, una disminución de los pesos del buche, la molleja y el hígado y una reducción de las enzimas hepáticas<sup>(17)</sup>, concluyendo que gobernadora contiene metabolitos secundarios con actividad antioxidante en cultivos celulares<sup>(18)</sup>, antiparasitaria<sup>(19)</sup> y antimicrobiana contra *Salmonella* aislada de instalaciones avícolas<sup>(20)</sup>, por lo que esta planta funciona adecuadamente, sin efectos secundarios, como promotor alternativo de crecimiento para aves. En el presente estudio se observó que la dosis de 20 mg, pero no a 25 mg, redujo la ganancia de peso, a pesar de que el consumo de alimento no fue afectado. Previamente se reportó que la dosis de 20 mg indujo una reducción en el consumo de alimento y concluyeron un efecto no deseable a esa dosis alta como resultado de baja palatabilidad o por toxicidad subaguda<sup>(17)</sup>, aunque esto no fue confirmado con los resultados del presente trabajo.

Los reportes relacionados con estos compuestos bioactivos en la respuesta inmune son más limitados. En un estudio con menta, equinácea, tomillo y propóleo sobre el rendimiento, la respuesta inmune y los índices hematológicos en pollos de engorde, encontraron mayor productividad, perfil leucocitario y respuesta inmune por efecto de la mezcla, y no de manera individual, de los diferentes compuestos bioactivos contenidos en esas plantas y en el propóleo<sup>(20)</sup>. De manera natural existe una respuesta inmune que genera el leucotrieno A4, que es mediada por las lipoxigenasas (LOX), leucotrienos que pertenecen al ciclo del ácido araquidónico, las encargadas de regular la inflamación y respuesta inmune contra infecciones y lesiones tisulares. El ácido nordihidroguaiarético (NDGA), también llamado masoprocol es un lignano fenólico extraído principalmente de plantas del género *Larrea*. La NDGA tiene una afinidad para regular los efectos de las lipoxigenasas, actuando como un antioxidante para inhibir la presencia del hierro que permite los efectos no deseados de las LOX, logrando una reducción de metabolitos nocivos derivados del ácido araquidónico<sup>(21)</sup>.

En este estudio, el extracto no tuvo efecto en el recuento de glóbulos blancos, posiblemente porque se utilizó un solo extracto a diferencia de otros estudios, donde se emplearon varias plantas que logran una sinergia para estimular la función del sistema inmune en humanos y aves de corral<sup>(20,22)</sup>. Sin embargo, el extracto de *L. tridentata* mejoró los títulos de anticuerpos hacia la vacuna contra la enfermedad de Newcastle, lo cual indica que se indujo una mejor respuesta inmuno-moduladora. La cuantificación de los títulos de inmunoglobulina IgA en los pollos hubiese ayudado a evaluar esta respuesta inmunológica a la vacunación contra Newcastle<sup>(23)</sup>. La patogénesis de la mayoría de las infecciones virales, incluyendo el virus de Newcastle, implica no solo una apoptosis por la proliferación del virus en las células infectadas, sino también lesiones celulares en células infectadas y no infectadas, debido a las especies reactivas del oxígeno (ROS) producidas por los neutrófilos y macrófagos que se infiltran en los órganos infectados<sup>(24)</sup>. El NDGA de *L. tridentata* mostró en células de corion con infección viral no sólo inhibió eficientemente la proliferación del virus, sino que también mostró un efecto potente como antioxidante. La importancia de no afectaciones en el peso de timo, bazo, bolsa de Fabricio radica en Newcastle cause atrofia y severa destrucción en estos órganos linfoides, induciendo inmunosupresión, por lo que el extracto de gobernadora pudiera inducir una acción preventiva al mejorar la respuesta inmune en los pollos e inhibir la replicación viral<sup>(25,26)</sup>.

## **Conclusiones e implicaciones**

Con los resultados del presente estudio se puede concluir que el extracto acuoso de gobernadora, a una dosis de 15 mg/kg de alimento, mejora el rendimiento y la respuesta inmune contra la enfermedad de Newcastle. En general, los compuestos secundarios contenidos en las hojas de gobernadora pueden tener potencial para mejorar la salud y el desempeño productivo, aunque será necesario conocer más sobre la diversidad y concentración de los componentes activos que beneficien a los animales.

### **Agradecimientos**

A la Universidad Autónoma de San Luis Potosí y a la Universidad Veracruzana por el apoyo en la estancia sabática del primer autor.

### **Conflictos de interés**

Ninguno de los autores presenta conflicto de interés.



**Literatura citada:**

1. Bagal VL, Khatta VK, Tewatia BS, Sangwan SK, Raut SS. Relative efficacy of organic acids and antibiotics as growth promoters in broiler chicken. *Vet World* 2016;9(4):377-382. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2016.377-382>.
2. Khan RU, Fatima A, Naz S, Ragni M, Tarricone S, Tufarelli V. Perspective, opportunities and challenges in using Fennel (*Foeniculum vulgare*) in poultry health and production as an eco-friendly alternative to antibiotics: a review. *Antibiotics* 2022;11(2):278. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11020278>.
3. Khan RU, Khan A, Naz S, Ullah Q, Laudadio V, Tufarelli V, *et al.* Potential applications of *Moringa oleifera* in poultry health and production as alternative to antibiotics: a review. *Antibiotics* 2021;10(12):1540. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10121540>.
4. López-Aguirre S, García-López JC, Pinos-Rodríguez JM, Yáñez-Estrada L, López-Hernández Y. Chemical characterization and oral toxicity of an aqueous extract of *Larrea tridentata*. *J Nat Prod* 2016;2(2):79-82.
5. Reyes-Melo KY, Galván-Rodrigo AA, Martínez-Olivo IE, Núñez-Mojica G, Ávalos-Alanís FG, García A, *et al.* *Larrea tridentata* and its biological activities. *Curr Top Med Chem* 2021;21(26):2352-2364. <https://doi.org/10.2174/1568026621666210727170908>.
6. Posadzki P, Watson LK, Ernst E. Adverse effects of herbal medicines: an overview of systematic reviews. *Clin Med* 2013;13(1):7-12. <https://doi.org/10.7861/clinmedicine.13-1-7>.
7. Gnabre J, Bates R, Huang RC. Creosote bush lignans for human disease treatment and prevention: Perspectives on combination therapy. *J Tradit Complement Med* 2015;12;5(3):119-126. <https://doi.org/10.1016/j.jtcme.2014.11.024>.
8. Guzmán-Beltrán S, Rubio-Badillo MÁ, Juárez E, Hernández-Sánchez F, Torres M. Nordihydroguaiaretic acid (NDGA) and  $\alpha$ -mangostin inhibit the growth of *Mycobacterium tuberculosis* by inducing autophagy. *Int Immunopharmacol* 2016;31:149-57. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2015.12.027>.
9. Zuniga KB, Chan JM, Ryan CJ, Kenfield SA. Diet and lifestyle considerations for patients with prostate cancer. *Urol Oncol* 2020;38(3):105-117. <https://doi.org/10.1016/j.urolonc.2019.06.018>.
10. Morales-Ubaldo AL, Rivero-Perez N, Valladares-Carranza B, Madariaga-Navarrete A, Higuera-Piedrahita RI, Delgadillo-Ruiz L, *et al.* Phytochemical compounds and pharmacological properties of *Larrea tridentata*. *Molecules* 2022;27(17):5393. <https://doi.org/10.3390/molecules27175393>.



11. Gutiérrez Castro LL, Corredor Matus JR. Parámetros sanguíneos y respuesta inmune en pollos de engorde alimentados con probióticos. *Veterinaria y Zootecnia* 2017;11(2):81-92. <https://doi.org/10.17151/vetzo.2017.11.2.7>.
12. NOM-062-Z00-1999. Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de animales de laboratorio. Artículo 2.2. México, 2014.
13. NRC. Nutrient requirements of Poultry 8th Rev. Ed. Washington DC. USA. National Academy Press; 1994.
14. Campbell TW. Avian hematology and cytology. Ames, Iowa State University Press; 1995:3-19.
15. SAS Institute. SAS User's Guide: Statistics, SAS Institute Inc., Cary, NC. USA. 1991.
16. Talebi A, Asri-Rezaei S, Rozeh-Chai R, Sahraei R. Comparative studies on haematological values of broiler strains (Ross, Cobb, Arbor-acres and Arian). *Int J Poultry Sci* 2005;4:573-579. doi: 10.3923/ijps.2005.573.579.
17. García-López JC, Lee-Rangel HA, López S, Vicente J, Pardo-Sedas V, Estrada-Coates AT, *et al*. Efectos de *Larrea tridentata* en el crecimiento, peso de los órganos y enzimas hepáticas en pollos. *Agrociencia* 2018;52:1-8.
18. Skouta R, Morán-Santibañez K, Valenzuela CA, Vasquez AH, Fenelon K. Assessing the antioxidant properties of *Larrea tridentata* extracts as a potential molecular therapy against oxidative stress. *Molecules* 2018;23:1826.
19. Bashya B, Li L, Bains T, Debnath A, La Barbera DV. *Larrea tridentata*: A novel source for anti-parasitic agents active against *Entamoeba histolytica*, *Giardia lamblia* and *Naegleria fowleri*. *PLoS Negl Trop Dis* 2017;11:e0005832.
20. López-Aguirre S, Pinos-Rodríguez JM, Álvarez-Fuentes G, García-López JC, Méndez-Corte H. Uso potencial de extractos de creosote bush (*Larrea tridentata*) como desinfectante sobre *Salmonella typhimurium* en instalaciones avícolas. *ITEA-Inf Tec Econ Agrar* 2020;116(4):294-305.
21. Manda G, Rojo AI, Martínez-Klimova E, Pedraza-Chaverri J, Cuadrado A. Nordihydroguaiaretic acid: From herbal medicine to clinical development for cancer and chronic diseases. *Front Pharmacol* 2020;11:151. <https://doi.org/10.3389/fphar.2020.00151>.
22. Abbas AO, Alaqil AA, El-Beltagi HS, Abd El-Atty HK, Kamel NN. Modulating laying hens productivity and immune performance in response to oxidative stress induced by *E. coli* challenge using dietary propolis supplementation. *Antioxidants* 2020;21;9(9):893. <https://doi.org/10.3390/antiox9090893>.

23. Zhao K, Rong G, Hao Y, Yu L, Kang H, Wang X, *et al.* IgA response and protection following nasal vaccination of chickens with Newcastle disease virus DNA vaccine nanoencapsulated with Ag@SiO<sub>2</sub> hollow nanoparticles. *Sci Rep* 2016;25720. <https://doi.org/10.1038/srep25720>.
24. Rehman ZU, Meng C, Sun Y, Safdar A, Pasha RH, Munir M, *et al.* Oxidative stress in poultry: lessons from the viral infections. *Oxid Med Cell Longev* 2018;5123147. doi: 10.1155/2018/5123147.
25. Ezema WS, Eze DC, Shoyinka SVO, Okoye JOA. Atrophy of the lymphoid organs and suppression of antibody response caused by velogenic Newcastle disease virus infection in chickens. *Trop Anim Health Prod* 2016;48:1703-1709. doi:10.1007/s11250-016-1147-x.
26. Uchida N, Ohyama K, Bessho T, Toyoda H. Inhibition of influenza-virus-induced apoptosis in chorion cells of human fetal membranes by nordihydroguaiaretic acid. *Intervirology* 2005;48(5):336-340. doi:10.1159/000085103.