

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA**  
**INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN CIENCIAS VETERINARIAS**



**EVALUACIÓN DE UNA FUENTE ESTANDARIZADA DE MEZCLA DE  
ACEITES ESENCIALES (CRINA®RUMINANTS) EN COMPARACIÓN CON LA  
SUPLEMENTACIÓN DE MONENSINA EN CORDEROS ALIMENTADOS CON  
UNA DIETA DE ALTA ENERGÍA**

TESIS

COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE  
MAESTRO EN CIENCIAS VETERINARIAS

PRESENTA

DANIEL ALEJANDRO MENDOZA CORTEZ

DIRECTOR DE TESIS

DRA. OLGA MARITZA MANRIQUEZ NUÑEZ

Mexicali, Baja California.

Septiembre, 2020

Evaluación de una fuente estandarizada de mezcla de aceites esenciales (CRINA®Ruminants) en comparación con la suplementación de monensina en corderos alimentados con una dieta de alta energía. Tesis presentada por **Daniel Alejandro Mendoza Cortez**, la cual fue revisada bajo la dirección del consejo particular indicado, misma que ha sido aprobada y aceptada como requisito para obtener el grado de: Maestro en Ciencias Veterinarias.

---

Dra. Olga Maritza Manríquez Núñez

Director de Tesis

---

Dra. Beatriz Isabel Castro Pérez

Co-director

---

Dr. Alejandro Plascencia Jorquera

Asesor

---

Dr. Alfredo Estrada Angulo

Asesor

---

Dr. Alberto Barreras Serrano

Asesor

## **AGRADECIMIENTOS**

A MIS ASESORES:

Dra. Olga Maritza Manríquez Núñez

Dra. Beatriz Isabel Castro Pérez

Dr. Alejandro Plascencia Jorquera

Dr. Alfredo Estrada Angulo

Dr. Alberto Barreras Serrano

Por su incondicional apoyo y enseñanzas para conmigo, por todas y cada una de las atenciones y experiencias tanto personales como profesionales que me compartieron durante mi desarrollo en la Maestría.

A la plantilla docente de la Maestría en Ciencias Veterinarias, por ser parte de mi formación académica, las experiencias profesionales compartidas y el apoyo constante.

A la Universidad Autónoma de Baja California, por permitirme la conclusión en mi formación profesional.

Al Instituto de Investigaciones en Ciencias Veterinarias, por darme todas las herramientas y ser parte fundamental de mi formación en la Maestría en Ciencias Veterinarias.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT), por el apoyo financiero brindado para la realización de mis estudios de posgrado.

## DEDECATORIAS

A mi Familia:

Mi Padre Sr. José Mendoza y mi Madre Sra. María Luisa Cortez, por su apoyo incondicional, por fomentar en mi la dedicación y responsabilidad, todos sus consejos, porque siempre sé que cuento con ustedes y esta meta cumplida en mi vida es por y para ustedes.

Mis hermanos, Manuel, Jorge y Diego, por siempre estar ahí para apoyarme.

¡Gracias!

## CONTENIDO

	<b>Página</b>
LISTA DE CUADROS.....	i
LISTA DE FIGURAS.....	ii
RESUMEN.....	iii
ABSTRACT.....	v
INTRODUCCIÓN.....	1
REVISIÓN DE LITERATURA.....	3
Aditivos alimenticios.....	3
Uso de antibióticos como promotores de crecimiento.....	3
Antibióticos poliéter carboxílicos (ionóforos).....	4
Mecanismo de acción.....	5
Efecto sobre la población ruminal y metabolismo energético....	6
Efecto sobre la productividad en rumiantes en crecimiento- finalización.....	7
Restricción sobre el uso de antibióticos como aditivos alimenticios.....	8
Alternativas al uso de antibióticos.....	9
Extractos vegetales.....	10
Taninos.....	10
Derivados isoquinolinicos.....	12
Aceites esenciales.....	13
Uso de aceites esenciales en la alimentación animal.....	14
Mecanismo de acción.....	15
Efecto de los aceites esenciales en la población microbiana ruminal.....	16
Aceites esenciales y fermentación ruminal.....	16
Efecto en el comportamiento productivo de rumiantes.....	19
HIPOTESIS Y OBJETIVO.....	23

	<b>Página</b>
LITERATURA CITADA.....	24
Evaluación de una fuente estandarizada de mezcla de aceites esenciales (CRINA®Ruminants) en comparación con la suplementación de monensina en corderos alimentados con una dieta de alta energía.....	33

## LISTA DE CUADROS

<b>Cuadro</b>		<b>Página</b>
1	Resumen de las estimaciones del tamaño del efecto de la monensina sobre los resultados de rendimiento en el ganado en crecimiento y acabado, derivado del metanálisis.....	8
2	Resultados sobre los efectos de los taninos en la función del rumen.....	11
3	Resultados sobre los efectos de los derivados isoquinolínicos en la función del rumen.....	13
4	Efecto de la adición de diferentes aceites esenciales y dosis sobre el consumo, producción de leche, metano y ácidos grasos volátiles totales en vacas lecheras, en diferentes estudios. Estimación de las diferencias porcentuales con respecto al tratamiento testigo.....	18
5	Efecto de la adición de diferentes aceites esenciales y dosis sobre el consumo, promedio de ganancia diaria, metano y ácidos grasos volátiles totales en bovinos productores de carne, en diferentes estudios. Estimación de las diferencias porcentuales con respecto al tratamiento testigo.....	20
6	Efecto de la adición de diferentes aceites esenciales y dosis sobre el consumo, promedio de ganancia diaria, metano y ácidos grasos volátiles totales en ovinos, en diferentes estudios. Estimación de las diferencias porcentuales con respecto al tratamiento testigo.....	21

## LISTA DE FIGURAS

Figura		Página
1	Efecto de la monensina (M) en el flujo de iones en <i>S. bovis</i> .....	6



## RESUMEN

Se utilizaron treinta y seis corderos machos enteros cruzados Pelibuey x Katahdin ( $28.5 \pm 3.5$ ) en un experimento de 56 días para evaluar los efectos de una fuente estandarizada de aceites esenciales (EO) *versus* monensina sódica (MON) en el comportamiento productiva, energética de la dieta, y características de la canal. Los corderos que fueron alimentados con una dieta de finalización de alta energía fueron suplementados diariamente con 30 mg de MON/cordero o con 150 mg de EO/cordero. Además, se incluyó un tratamiento no suplementado como control negativo. El consumo de agua entre los corderos EO y Control fue similar entre tratamientos. En contraste, los corderos alimentados con MON consumieron 18.1% menos ( $P < 0.01$ ) agua que los grupos de control y EO. En comparación con los controles, la EO mejoró ( $P < 0.05$ ) la eficiencia alimenticia, la energía neta (NE) de la dieta estimada. En comparación con MON, la suplementación con EO aumentó ( $P < 0.05$ ) la ingesta de materia seca (DMI), la ganancia diaria promedio (ADG) y la eficiencia alimenticia, y tendió ( $P = 0.09$ ) a aumentar la NE de la dieta estimada. En comparación con los controles, los corderos alimentados con MON disminuyeron el DMI y el ADG pero sin mostrar diferencias en la eficiencia alimenticia y la NE de la dieta estimada. Con excepción del peso de la canal (los corderos alimentados con MON tenían un peso de canal caliente más bajo que Control y EO), no hubo efectos de los tratamientos sobre la composición de la canal. En comparación con los controles, la suplementación con EO y MON disminuyó los pesos relativos (como proporción del peso corporal vacío) del intestino y la grasa omental. En comparación con MON, EO disminuyó el peso relativo de la grasa mesentérica. Se concluye que la suplementación con EO puede mejorar la ganancia diaria promedio y/o la eficiencia alimenticia en comparación con los corderos no suplementados o con corderos suplementados con monensina. Los corderos alimentados y suplementados con EO mostraron menos grasa visceral sin efectos negativos sobre las características de la canal o sobre la masa de los órganos viscerales. Como tal, la suplementación con EO es una alternativa viable al antibiótico monensina en la finalización de corderos con dietas de alta energía.

**Palabras clave:** Corderos, Aceites esenciales, Monensina, Comportamiento productivo, Energética de la dieta, Canal.

## ABSTRACT

Thirty-six Pelibuey × Katahdin crossbred intact male lambs ( $28.5 \pm 3.5$ ) were used in a 56-d experiment to evaluate the effects of a standardized source of essential oils (EO) versus monensin sodium (MON) on growth performance, dietary energetic, and carcass characteristics. Lambs that were fed with high energy finishing diet were daily supplemented with 30 mg MON/lamb or with 150 mg EO/lamb. Additionally, an un-supplemented treatment was included as a negative control. Water consumption between EO and Controls lambs was very similar. In contrast, lambs fed MON consumed 18.1% less ( $P < 0.01$ ) water than Controls and EO groups. Compared to Controls, EO improved ( $P < 0.05$ ) gain efficiency, estimated dietary net energy (NE). Compared to MON, supplemental EO increased ( $P < 0.05$ ) dry matter intake (DMI), average daily gain (ADG) and gain efficiency, and tended ( $P = 0.09$ ) to increase estimated dietary NE. Compared to Controls, lambs fed MON decreased DMI and ADG but without showing difference on gain efficiency and estimated dietary NE. With exception of carcass weight (lambs fed MON had lower hot carcass weight than Control and EO), there were no treatments effects on carcass composition. Compared with Controls, EO and MON supplementation decreased relative weights (as a proportion of empty body weight) of intestine and omental fat. Compared with MON, EO decreased relative weight of mesenteric fat. We concluded that supplemental EO may enhance average daily gain and/or feed efficiency when compared with non-supplemented lambs or with lambs supplemented with monensin. Lambs fed with supplemental EO showed less visceral fat without negative effects on carcass characteristics or on visceral organ mass. As such, supplemental EO is a viable alternative to the antibiotic monensin in finishing high-energy diets for lambs.

**Keywords:** Lambs, Essential oils, Monensin, Growth performance, Dietary energy, Carcass.

## INTRODUCCIÓN

Durante décadas se han utilizado los aditivos alimenticios en la producción animal por los efectos benéficos que producen en indicadores fisiológicos, productivos y de salud. De esta forma, se logran disminuir los costos e incrementar la eficiencia en los sistemas productivos. Ciertos antibióticos se utilizan comúnmente como promotores de crecimiento en las dietas de los animales en algunos países debido a que previenen enfermedades y trastornos metabólicos y mejoran la eficiencia de la alimentación. Los antibióticos poliéteres carboxílicos, conocidos comúnmente como ionóforos, se utilizan ampliamente en la engorda de ganado, dentro de ellos, la monensina sódica es actualmente la del uso más extendido. La monensina sódica mejora la digestión ruminal al modificar la relación acetato: propionato (Ornaghi *et al.*, 2017), por lo tanto, se reducen las pérdidas de energía por la producción de gas metano mejorando la eficiencia productiva de un 3 a un 15% (Duffield *et al.*, 2012). Sin embargo, debido a la aparición de resistencia a los antibióticos y posibles riesgos para la salud humana causados por los residuos en los productos finales, su uso ha sido prohibido en algunas regiones como la Unión Europea, donde la investigación ha comenzado a centrarse en la búsqueda de alternativas naturales, que sean bien aceptadas por los consumidores (Rivaroli *et al.*, 2016). Los extractos de plantas ofrecen una oportunidad en este sentido ya que algunas especies producen metabolitos secundarios con propiedades antimicrobianas. Algunos extractos vegetales tales como los taninos, derivados isoquinolínicos y aceites esenciales se consideran posibles sustitutos naturales de los antibióticos, mejorando el rendimiento y la eficiencia alimenticia debido a sus efectos moduladores antimicrobianos, antiinflamatorios, antioxidantes y digestivos sobre el metabolismo ruminal, y evitando daños futuros a la salud de los consumidores derivados de los residuos de antibióticos; por lo tanto, son una alternativa para optimizar los sistemas de producción animal (Ornaghi *et al.*, 2017). Por lo anterior, el objetivo del presente trabajo es comparar el efecto de la suplementación de aceites esenciales *versus* monensina sódica sobre la respuesta productiva y

características de la canal en ovinos en finalización, con el fin de evaluar uno de los posibles sustitutos al uso de antibióticos en la alimentación de rumiantes.

## **REVISIÓN DE LITERATURA**

### **Aditivos alimenticios**

Los aditivos para alimentación animal son tan numerosos y heterogéneos que es difícil hacer una definición precisa. No obstante, en términos generales, un aditivo alimentario se refiere a un producto incluido en la formulación a un nivel bajo de inclusión cuyo propósito es incrementar la calidad nutricional del alimento, el bienestar o la salud del animal (Ravindran, 2010).

Se reconoce por la comunidad científica que la definición más aceptada del término aditivos para la alimentación animal es la emitida en el Reglamento (CE) No. 1831/2003 del Parlamento Europeo y el Consejo, donde se refiere que son sustancias, microorganismos y preparados distintos de las materias primas para piensos y de las premezclas, que se añaden intencionadamente al alimento o al agua para influir favorablemente en: 1) las características de los piensos o de los productos de origen animal, 2) las consecuencias ambientales de la producción, 3) los rendimientos productivos, el bienestar, la salud, mediante su influencia en el perfil de la flora microbiana intestinal o la digestibilidad de los alimentos, o 4) por su efecto coccidiostático o histomonostático (Ravindran, 2010).

Durante décadas se han utilizado los aditivos en la producción animal con el objetivo de mejorar los rendimientos productivos, no solo incrementando los niveles de producción sino también mejorando los parámetros reproductivos y el estado sanitario de los animales (Acedo y González, 1998). De esta forma, se logran disminuir los costos e incrementar la eficiencia en los sistemas productivos (García y García, 2015).

### **Uso de antibióticos como promotores de crecimiento**

El uso de diversos antibióticos y productos antimicrobianos como promotores del crecimiento animal se convirtió en práctica común después de su descubrimiento en los años cuarenta.

Los antibióticos promotores de crecimiento (APC) son unos de los aditivos más utilizados en la alimentación animal, ya que provocan modificaciones de los procesos digestivos y metabólicos de los animales, que se traducen en aumentos de la eficiencia de utilización de los alimentos y en mejoras significativas de la ganancia de peso. También producen modificaciones en el tracto digestivo, que suelen ir acompañadas de cambios en la composición de la flora digestiva (disminución de agentes patógenos), reducciones en el ritmo de tránsito de la digesta, aumentos en la absorción de algunos nutrientes (p.e. vitaminas) y reducciones en la producción de amoníaco, aminos tóxicas y a –toxinas (Carroy Ranilla, 2002).

En resumen, la utilización de APC reduce la incidencia de enfermedades en el ganado, mejora la digestión y utilización de los alimentos, y reduce la cantidad de gases y excretas producidos por los animales. Todo ello se traduce en beneficios tanto para el consumidor, a través de una reducción del precio de los productos animales, como para el medio ambiente. Hoy en día, los antimicrobianos más utilizados en la producción de ganado son los ionóforos.

### **Antibióticos poliéter carboxílicos (ionóforos)**

Los ionóforos son antibióticos que se usan como coccidiostáticos y promotores del crecimiento en la práctica veterinaria. Forman complejos con cationes mono y divalentes y facilitan el movimiento de iones metálicos al proporcionar canales lipofílicos a través de las membranas lipídicas hidrofóbicas (Kart y Ali, 2008). Esta propiedad de transportar iones, disipa los gradientes de iones y desacopla los gastos de energía del crecimiento en bacterias susceptibles, matando a estas bacterias.

Estos antimicrobianos se dirigen específicamente a la población bacteriana ruminal y alteran la ecología microbiana, lo que resulta en una mayor retención de carbono y nitrógeno por parte del animal, aumentando la eficiencia de producción (Callaway *et al.*, 2003).

Los ionóforos hacen que el ganado crezca de manera más eficiente, pero originalmente se usaron para controlar los parásitos intestinales (coccidiostato)

en aves de corral. La monensina se ha comercializado para el ganado como inhibidor de metano y potenciador del propionato (el AGV [gluconeogénico] más eficientemente utilizado). Los beneficios adicionales del uso de monensina incluyen una reducción de la desaminación de proteínas en la dieta, lo que resulta en una menor excreción urinaria de amoníaco, y una disminución en la producción de ácido láctico que da como resultado una reducción en el ruminal acidosis y abscesos hepáticos. Los aumentos en la disponibilidad de energía y la retención de nitrógeno mejoran la eficiencia de la utilización del alimento por parte del animal rumiante y, por lo tanto, mejoran la productividad animal y la rentabilidad de la producción (Callaway *et al.*, 2003).

### **Mecanismo de acción**

Los ionóforos son generalmente bacteriostáticos y no bactericidas y sus mecanismos de acción son su capacidad para alterar el flujo de cationes a través de la membrana (Gonçalves *et al.*, 2012).

Las membranas bacterianas son relativamente impermeables a los iones, lo que permite utilizar gradientes iónicos como fuerza impulsora para la absorción de nutrientes. Las bacterias ruminales mantienen altas concentraciones de potasio intracelular y bajas concentraciones de sodio intracelular y, por el contrario, el ambiente ruminal contiene altas concentraciones de sodio y bajas concentraciones de potasio. Por lo tanto, las bacterias ruminales dependen en gran medida de los gradientes de iones (gradientes de  $K^+$  y  $Na^+$ ) para absorber nutrientes y establecer una fuerza motriz de protones (PMF). El pH ruminal es algo ácido debido a las concentraciones de VFA, sin embargo, el pH intracelular de muchas bacterias ruminales es casi neutral, creando así un gradiente de protones dirigido hacia adentro (Callaway *et al.*, 2003).

La monensina es un antiportador de metal / protón que puede intercambiar  $H^+$  por  $Na^+$  o  $K^+$ . Una vez insertado en la membrana, la monensina intercambia iones de potasio intracelulares por protones extracelulares, o sodio extracelular por protones intracelulares (Figura 1). Debido a que el gradiente de potasio es mayor que el gradiente de sodio, los protones se acumulan dentro de la bacteria.



La bacteria reacciona a esta acidificación citoplasmática activando una ATPasa reversible para bombear estos protones fuera de la célula. Además, otras bombas primarias que utilizan ATP para la eliminación de Na<sup>+</sup> y la absorción de K<sup>+</sup> se activan para restablecer los gradientes de iones; resultando en el desacoplamiento de la hidrólisis de ATP del crecimiento, disminuyendo así los conjuntos de ATP intracelular, lo que lleva a la muerte celular (Callaway *et al.*, 2003).

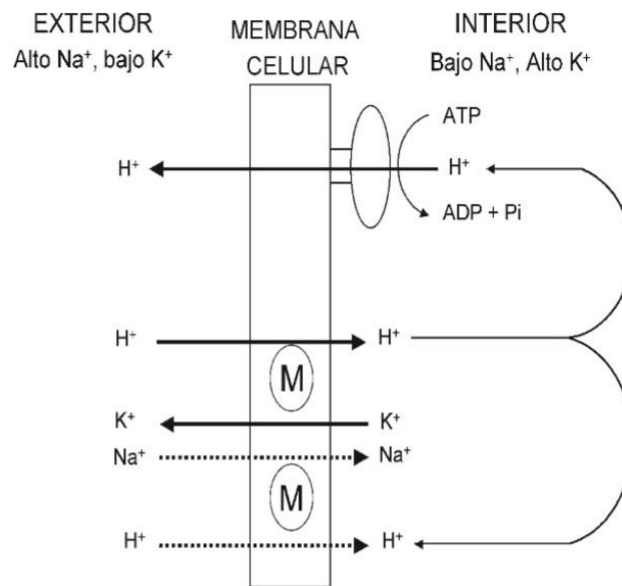


Figura 1. Efecto de la monensina (M) en el flujo de iones en *S. bovis* (Russell, 1987).

### Efecto sobre la población ruminal y metabolismo energético

La monensina de sodio es producida por la fermentación de *Streptomyces cinnamonensis*, y promueve la desestabilización iónica de bacterias Gram-positivas por medio del flujo de iones Na<sup>+</sup> en la célula, comprometiendo el equilibrio osmótico y electrolítico de los microorganismos (Neumann *et al.*, 2018).

En el ambiente ruminal, actuará sobre las bacterias del ácido láctico (*Streptococcus bovis* y *Lactobacillus spp.*), reduciendo la incidencia de enfermedades metabólicas y ruminales, como la acidosis láctica, causado por una alta proporción de concentrado en el alimento, y favoreciendo una reducción en la producción de metano por la reducción de bacterias Gram-positivas que

tienen hidrógeno como producto final. Por lo tanto, hay un aumento en la participación de bacterias Gram negativas, como las productoras de propionato y las utilizadoras de lactato en el rumen (Neumann *et al.*, 2018). Por lo tanto, La monensina cambia la proporción de ácidos grasos volátiles en el rumen, aumentando la producción de ácido propiónico y reduciendo los porcentajes molares de ácidos butírico y acético (Duffield *et al.*, 2012). Una producción mejorada de propionato en el rumen puede aumentar la disponibilidad de glucosa para el huésped a través de la gluconeogénesis. La glucosa derivada del propionato producido en el rumen constituye una parte importante (24-61%) de la producción total de energía (Markantonatos y Varga, 2017). El aumento de la producción de ácido propiónico proporciona así más energía del alimento al animal a través del aumento del suministro de glucosa y aumentando la energía metabolizable debido a una reducción en la producción de acetato (Neumann *et al.*, 2018).

Además, Existe una mayor disponibilidad de proteínas derivadas de alimentos en el intestino delgado, debido a una disminución de las bacterias proteolíticas y fermentadoras de aminoácidos, lo que favorece el metabolismo de las proteínas (Neumann *et al.*, 2018).

### **Efecto sobre la productividad en rumiantes en crecimiento-finalización**

Los impactos reportados de la monensina desde su aprobación para el ganado de engorde a mediados de la década de 1970 en la eficiencia de la alimentación, la ganancia diaria promedio y la ingesta de materia seca no siempre han sido consistentes. Por ejemplo, muchos estudios han encontrado que la monensina mejora significativamente la eficiencia alimenticia, mientras que algunos estudios no han encontrado efectos significativos sobre la eficiencia alimenticia (Duffield *et al.*, 2012).

Duffield y col. (2012), realizaron un metanálisis del impacto de la monensina en el crecimiento y la finalización del ganado de carne. Se seleccionó un total de 40 artículos revisados por pares y 24 informes de ensayos adicionales

con alimentación de monensina en ganado de carne. Los datos para cada ensayo se extrajeron y analizaron utilizando un software de metanálisis en STATA. El tamaño estimado del efecto de la monensina se calculó para la eficiencia alimenticia (FE), ganancia diaria de peso (ADG) y el consumo de materia seca (DMI). El uso de monensina en el ganado vacuno de engorda y en crecimiento redujo el DMI ( $P < 0.001$ ) y mejoró tanto la ADG ( $P < 0.001$ ) como la FE ( $P < 0.001$ ). La concentración promedio de monensina en el alimento entre los estudios fue de 28.1 mg / kg de alimento (100% MS) y esto resultó en un aumento de aproximadamente 6.4% (pero solo 2.5 a 3.5% en las últimas 2 décadas) en FE, disminución de 3% en DMI, y un aumento del 2.5% en ADG (Cuadro 1).

Cuadro 1. Resumen de las estimaciones del tamaño del efecto de la monensina sobre los resultados de rendimiento en el ganado en crecimiento y acabado, derivado del metanálisis.

Medidas de resultados	Diferencia de medias ponderada para el control de monensina (IC 95%) <sup>5</sup>	Cambio, %	Corrales o ganado por tratamiento	Pruebas	Tamaño del efecto <i>P</i>
CA <sup>1</sup> , kg	-0.53 (-0.61, -0.45)	-6.4	634	130	<0.001
CMS <sup>2</sup> , kg	-0.268 (-0.32, -0.21)	-3.1	854	151	<0.001
GDP <sup>3</sup> , kg/d	+0.0291 (0.019, 0.040)	+2.5	799	156	<0.001
EA <sup>4</sup> , kg	+0.0021 (-0.0001, 0.0043)	+1.3	186	32	0.048

<sup>1</sup>CA= Conversión alimenticia

<sup>2</sup>CMS= Consumo de materia seca

<sup>3</sup>GDP= Ganancia diaria de peso

<sup>4</sup>EA= Eficiencia alimenticia

<sup>5</sup>La diferencia de medias ponderada es la estimación del efecto real del tratamiento en unidades de medida; IC=Intervalo de confianza

### **Restricción sobre el uso de antibióticos como aditivos alimenticios**

A pesar de los beneficios evidentes, en la Unión Europea, el uso de antibióticos como promotores del crecimiento (APC) en piensos se ha asociado con la resistencia a los antibióticos en humanos que consumen los productos y coproductos de estos animales, presumiblemente debido a la presencia de residuos residuales, y ha sido prohibido desde 2006 (Neumann *et al.*, 2018).

La prohibición del uso de APC se basa, esencialmente, en la peligrosidad de estas sustancias por su capacidad para crear resistencias cruzadas con los antibióticos utilizados en medicina humana. Sin embargo, desde algunos sectores se apuntan otras razones, como son la existencia de intereses comerciales y la posibilidad de bloquear así la importación de productos animales procedentes de países en los que el uso de estas sustancias está permitido (Carro y Ranilla, 2002).

### **Alternativas al uso de antibióticos**

Después de las medidas tomadas por la Comisión Europea sobre la prohibición del uso de antibióticos como aditivo en los alimentos, se produjo una problemática de urgente y difícil solución en la práctica. Esto es debido a que, el empleo de muchos aditivos y entre ellos los antibióticos, además de justificarse por razones económicas inmediatas, tiene en muchos casos una justificación razonable debido a la mejora de la eficacia de los procesos metabólicos y de la salud de los animales.

El reto actual, para el sector ganadero y la industria de piensos compuestos, es conseguir hacer rentables sistemas de producción más extensivos, que no hagan necesario el uso de los antiguos aditivos que podían suponer un riesgo para la salud del consumidor o para el medio ambiente, o conseguir unos efectos semejantes con el uso de productos naturales, nuevos y sin riesgo (Caja *et al.*, 2003).

Por este motivo, parece oportuna la investigación de sustancias alternativas para modificar la fermentación en el rumen y mejorar la digestibilidad del alimento, lograr mayores ganancias de peso o producciones de leche, reducir la eliminación al medio de productos de desecho que pueden llegar a resultar contaminantes y aliviar los efectos de algunos procesos mejorando el estado de bienestar de los animales. Todo ello de forma segura, sin comprometer la salud del consumidor. Entre estas sustancias, se propone el uso de plantas medicinales o de sus extractos o aceites esenciales (López *et al.*, 2002).

## **Extractos vegetales**

Los organismos vegetales producen una gran diversidad de compuestos químicos, muchos de ellos desempeñan una importante función en las interacciones entre las plantas y el medio que las rodea, además tienen aplicaciones en el campo de la medicina, industria aromática e industria alimentaria (Martínez, 2008).

La utilización de los extractos de plantas se plantea como una de las alternativas más naturales a los antibióticos promotores de crecimiento. Los mecanismos de acción de estos compuestos, no se conocen totalmente, y varían según la sustancia de la que se trate, pero algunos de los mecanismos propuestos son: disminuyen la oxidación de aminoácidos, ejercen una acción antimicrobiana sobre algunos microorganismos, estimulan la secreción de enzimas digestivas, aumentan la palatabilidad de los alimentos y estimulan su ingestión, y mejoran el estado inmunológico del animal (Carro y Ranilla, 2002).

Se debe destacar que los fármacos a base de plantas presentan una inmensa ventaja respecto a los tratamientos químicos. En las plantas, los principios activos siempre están biológicamente equilibrados por la presencia de sustancias complementarias que van a potenciarse biológicamente entre sí, no se acumulan en el organismo y sus efectos indeseables son limitados. Por lo anterior, los extractos vegetales suponen una alternativa confiable al uso de antibióticos para mejorar los índices productivos en rumiantes, tanto como promotores de crecimiento como para la mejora de la producción (Pereira *et al.*, 2017).

### **Taninos**

Los taninos son sustancias de origen vegetal, no nitrogenadas de estructura polifenólica, solubles en agua, alcohol y acetona. Estas sustancias son de sabor astringente y tienen la propiedad común de curtir la piel, haciéndola imputrescible e impermeable al fijarse sobre sus proteínas (Lizcano y Vergara, 2008).

Existen dos tipos de taninos: hidrolizables (TH) y condensados (TC), siendo estos últimos los que poseen mayor capacidad de interacción con otras moléculas, afectando la producción animal. En la actualidad, existe interés en TC como integrantes de dietas en rumiantes, debido a los beneficios potenciales sobre el valor nutritivo de la dieta y la salud animal. Los TC se unen con la proteína de la dieta, formando complejos estables e insolubles que se disocian en el abomaso a pH < 3.5, por este motivo, los taninos pueden reducir la degradabilidad de la proteína y el amoniaco en el rumen, y pueden aumentar el flujo de proteína hacia el intestino delgado, mejorando así el rendimiento de los rumiantes. Además, se observó que los taninos redujeron la producción de metano, debido a la reducción de la población protozoaria asociada a la metanogénesis y a la disminución de la degradación de la fibra (Mencio *et al.*, 2014).

Sin embargo, se ha demostrado también que una dosis alta de taninos puede afectar el consumo de alimento y la digestibilidad, lo que probablemente tenga consecuencias en la productividad de los animales (Frutos *et al.*, 2004). En el cuadro 2 se muestran los resultados de las investigaciones en las que se ha evaluado la inclusión de taninos en las dietas de rumiantes.

Cuadro 2. Resultados sobre los efectos de los taninos en la función del rumen.

Tipo	Fuente (planta)	Dosificación	Sistema/Huesped	Informes	Referencia
Taninos condensados	Quebracho	0.1 y 0.2%/kg de materia seca	<i>in vivo</i> (novillos), <i>in vitro</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Aumento de la GDP en ambos niveles de suplementación (2.25 kg/d a 2% y 2.09 kg/d a 1%, comparado con 1.82 kg/d en el control).</li> <li>• Disminución en la producción de metano ruminal al aumentar la suplementación.</li> </ul>	Min <i>et al.</i> (2016)
Taninos condensados	Tanino de quebracho secado y pulverizado	0.1, 0.2 y 0.4 mg/mL de medio	<i>in vitro</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Ningún efecto sobre el nivel de AGVs pero la proporción molar de propionato fue significativamente mayor en casi un 10% y el butirato en un 13% en comparación con el control.</li> <li>• Reducción de la concentración de NH<sub>3</sub> en un 47%, aunque la DMS no se vio afectada significativamente.</li> </ul>	Min <i>et al.</i> (2016)

Taninos condensados	Quebracho, Silvateam, Ontario, CA	0, 0.2, 0.4 y 0.6% en base materia seca	<i>in vivo</i> (novillos Holstein)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• La GDP aumentó en un 6.5%, con una tendencia (efecto lineal) para aumente con el nivel de suplementación.</li> <li>• El CMS también tendió a aumentar (efecto lineal) con el nivel de suplementación.</li> </ul>	Rivera <i>et al.</i> (2017)
Taninos condensados e hidrolizables	Quebracho, Silvateam, Ontario, CA  Castaño, Silvateam, Ontario, CA	1)0, 0.6% taninos condensados 2)0.6% taninos hidrolizables 3)0.3% taninos condensados y 0.3% taninos hidrolizables combinados	<i>in vivo</i> (novillos Holstein)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Los taninos (0.6%) aumentaron la GDP en 6.8%. Esta respuesta no fue afectada por la fuente de taninos.</li> <li>• El CMS mejoró en un 4%. Sin embargo, en comparación con los controles, el CMS fue mayor en un 7.1%, para los novillos alimentados con las combinaciones 50:50 de los taninos condensados e hidrolizables que cuando las fuentes de taninos se ofrecieron individualmente (2.4%).</li> </ul>	Rivera <i>et al.</i> (2017)
Mezcla de taninos condensados e hidrolizables	-	0, 2, 4 y 6 g de extracto de taninos/kg de materia seca en la dieta	<i>in vivo</i> (corderos)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Mejora el consumo de agua a un nivel creciente de inclusión de taninos, hasta en un 24% a 6 g/kg de materia seca en la dieta.</li> <li>• Sin efectos en GDP, CMS o EA.</li> </ul>	Rojas <i>et al.</i> (2017)

CMS= Consumo de materia seca; GDP= Ganancia diaria de peso; AGVs= Ácidos grasos volátiles; NH<sub>3</sub>= Amoniac; EA= Eficiencia alimenticia; DMS= Digestibilidad de la materia seca

Adaptada de Arowolo y He (2018)

### Derivados isoquinolínicos

Los alcaloides son compuestos derivados de microorganismos, organismos marinos y plantas. Son metabolitos secundarios con estructuras complejas nitrogenadas que han sido usadas en la medicina como agentes anticancerígenos, para combatir la malaria y como analgésicos, entre otras enfermedades. Además de sus propiedades medicinales, también se ha reportado la actividad antimicrobiana de los alcaloides, tanto para inhibición de bacterias como hongos.

Además de su variedad en cuanto a actividad biológica, los alcaloides presentan elevada diversidad estructural y diversos orígenes de acuerdo a su ruta, de biogénesis. Una de las clasificaciones más destacadas, es la de los alcaloides isoquinolínicos, los cuales se denominan así, por tener como base de su estructura, la isoquinolina. Los derivados isoquinolínicos, han sido reportados como los metabolitos secundarios de mayor actividad antimicrobiana en plantas

superiores. Estos alcaloides han sido aislados de plantas del genero *Siparuna*, como *S. arianae*, *V. Pereira* y *S. tanduziana* (Peña, 2011). En el cuadro 3 se muestran los resultados de las investigaciones en las que se ha evaluado la inclusión de derivados isoquinolínicos en las dietas de rumiantes.

Cuadro 3. Resultados sobre los efectos de los derivados isoquinolínicos en la función del rumen.

Fuente	Dosificación	Sistema/ Huesped	Informes	Referencia
Sangrovit-RS (mezcla de alcaloides cuaternarios de benzofenantridina y alcaloides protopina)	0, 2, 4 y 6 g/d (0, 6, 12 y 18 mg de principio activo respectivamente)	<i>in vivo</i> (novillos)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• La eficiencia microbiana ruminal (N microbiano duodenal; g/kg MO fermentada en el rumen) y la eficiencia de la proteína (N no amoniacal duodenal; g/g ingesta de N) aumentó a medida que aumentó el nivel de suplementación.</li> <li>• La energía digestible de la dieta tendió a aumentar con la suplementación con Sangrovit-RS.</li> <li>• El pH ruminal y las concentraciones molares totales de AGVs no fueron diferentes entre los tratamientos, sin embargo, la proporción molar ruminal de acetato aumentó a medida que aumentaba el nivel de suplementación.</li> </ul>	Aguilar <i>et al.</i> (2016)
<i>Macleaya cordata</i> (sanguinarina)	0 y 4 g/d (0 y 6 mg de principio activo respectivamente)	<i>in vivo</i> (toretos)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• El CMS, la GDP y la CA fueron similares entre los tratamientos.</li> <li>• Los animales que consumieron sanguinarina tuvieron un mayor rendimiento en canal y fueron más eficientes en la transformación de materia seca consumida a kilogramos de canal que los testigos.</li> </ul>	Michels <i>et al.</i> (2018)

CMS= Consumo de materia seca; GDP= Ganancia diaria de peso; EA= Eficiencia alimenticia; AGVs= Ácidos grasos volátiles; N= Nitrógeno; MO= Materia orgánica

### Aceites esenciales

Los aceites esenciales (EO) son componentes secundarios de las plantas, generalmente de naturaleza volátil. El término esencial deriva de la palabra “esencia”, lo cual significa que se puede oler o degustar. Se caracterizan de acuerdo a sus multitudes composiciones químicas, naturaleza y propiedades bio-activas.

La función principal de los aceites esenciales es brindarle a la planta protección contra agentes estresantes abióticos y bióticos, y en algunas



ocasiones atraer a otros organismos para favorecer la polinización y dispersión de sus semillas.

Los principios activos que se encuentran en los aceites esenciales se clasifican dentro de dos grupos químicos; terpenoides (monoterpenoides y sesquiterpenoides) y fenilpropanoides. Estos dos grupos se originan de diferentes precursores del metabolismo primario y son sintetizados por vías metabólicas diferentes en las plantas.

Los terpenoides son el grupo más numeroso y diversificado, se han descrito aproximadamente 15,000. Se denominan así porque derivan de una estructura básica de cinco carbonos (C<sub>5</sub>H<sub>8</sub>), comúnmente denominada unidad isopreno. Los fenilpropanoides son menos comunes, pero algunas plantas los contienen en cantidades altas, poseen cadenas de tres carbonos ligados a anillos aromáticos de seis carbonos y derivan en su mayoría de la fenilalanina.

Los isoprenos (C<sub>5</sub>) son los más comúnmente presentes en las plantas; isopentenil difosfato y dimetilamina difosfato, básicamente constituidos por terpenos y pertenecen al grupo de los terpenoides. Ejemplo de isoprenos son el limoneno, timol, carvacrol, linalol, carvon (Polin *et al.*, 2014).

### **Uso de aceites esenciales en la alimentación animal**

Los aceites esenciales se han usado para el tratamiento o prevención de enfermedades de los animales y en los últimos años se han evaluado como una alternativa en la nutrición de aves (principalmente en pollos de engorda), cerdos, rumiantes, y peces.

Entre los beneficios que tiene el uso de aceites esenciales en la alimentación animal se encuentran sus propiedades antimicrobianas, antioxidantes, antiparasitarias, antiinflamatorias, antidiarreicas y antimicóticas. Se ha observado que ellos mejoran la conversión alimenticia, estimulan enzimas digestivas y dan mejor sabor a los alimentos.

En el caso de su uso en rumiantes, los aceites esenciales tienen propiedades que son capaces de modificar la fermentación ruminal, haciendo

más aprovechables los nutrientes de los alimentos, con lo que mejora la eficiencia de producción de leche y de carne en bovinos y ovinos, obteniendo mayores ganancias de peso y mejores conversiones alimenticias.

Otro uso que se ha dado a los aceites esenciales ha sido el de reducir o inhibir la metanogénesis en el rumen al inhibir el crecimiento de algunas bacterias metanogénicas del rumen (*Methanobrevibacter smithii*, *M. ruminantium*, *Methanosphaera stadtmanae*) (Martinez *et al.*, 2015).

### **Mecanismo de acción**

Los factores que determinan la actividad de los aceites esenciales son la composición, los grupos funcionales presentes en los componentes activos y sus interacciones sinérgicas. El mecanismo de acción antimicrobiano varía con el tipo de EO o la cepa del microorganismo utilizado. Es bien sabido que, en comparación con las bacterias Gram-negativas, las bacterias Gram-positivas son más susceptibles a los EO. Esto se puede atribuir al hecho de que las bacterias Gram-negativas tienen una membrana externa que es rígida, rica en lipopolisacárido (LPS) y más compleja, y la resistencia limita la difusión de compuestos hidrófobos a través de ella, mientras que esta membrana extra compleja está ausente en bacterias Gram-positivas que, en cambio, están rodeadas por una gruesa pared de peptidoglucano que no es lo suficientemente densa como para resistir pequeñas moléculas antimicrobianas, lo que facilita el acceso a la membrana celular. Además, las bacterias Gram-positivas pueden facilitar la infiltración de compuestos hidrófobos de EO debido a los extremos lipofílicos del ácido lipoteicoico presente en la membrana celular.

Se ha demostrado en varios informes que los componentes bioactivos presentes en los EO podrían unirse a la superficie de la célula y, a partir de entonces, penetrar en la bicapa de fosfolípidos de la membrana celular. La integridad estructural de la membrana celular se ve alterada por su acumulación, que puede influir perjudicialmente en el metabolismo celular causando la muerte celular.

Además, se ha informado que la acción de los EO sobre la integridad de la membrana celular cambia la permeabilidad de la membrana, lo que conduce a la pérdida de contenido intracelular vital como proteínas, reduciendo azúcares, ATP y ADN, al tiempo que inhibe la generación de energía (ATP) y las enzimas relacionadas. a la destrucción de la célula y la fuga de electrolitos (Chouhan *et al.*, 2017).

### **Efecto de los aceites esenciales en la población microbiana ruminal**

Se ha reportado que los aceites esenciales inhiben a las bacterias productoras de nitrógeno amoniacal, decreciendo así la desanimación de los aminoácidos principalmente en dietas que contienen cantidades no muy altas de proteína. También se ha observado que el número total de bacterias viables no es afectado, es decir cambian solamente las proporciones de grupos bacterianos, pero en estudios in vitro donde se han incluido dosis altas, sí provocan descenso en el número total de microorganismos.

Por otro lado, los cambios en las poblaciones de protozoarios dependen del aceite esencial y la dosis utilizada, ya que los resultados de los experimentos realizados son muy variables, pudiendo no haber cambios en la población de protozoarios, provocando una disminución en el número total de protozoarios o afectando solo a ciertos grupos de protozoarios ruminales (Polin *et al.*, 2014).

### **Aceites esenciales y fermentación ruminal**

Algunos investigadores reportan una pequeña disminución en la concentración total de ácidos grasos volátiles al incluir aceites esenciales en las dietas de rumiantes; otros mencionan disminuciones significativas especialmente cuando se emplean concentraciones altas de aceites esenciales; y sólo unos cuantos estudios mencionan ligeros aumentos en la concentración total de AGV con inclusión de cinemaldehído en dosis de 200 mg/kg de MS (Chaves *et al.*, 2008<sub>b</sub>), y en dosis de 250 mg/kg de MS de aceite de orégano (Wang *et al.*, 2009). También se ha reportado que el uso de mezclas de EO (timol, limoneno y guayacol) en dosis de 1.5 ml/L (in vitro), incrementan los AGV totales (Castillejos *et al.*, 2005).

La respuesta a la inclusión de los aceites esenciales sobre la concentración total de ácidos grasos volátiles depende del tipo de dieta o substrato, lo cual puede deberse a las diferentes características nutrimentales de los insumos utilizados; otro factor que modifica la respuesta a la inclusión de aceites esenciales en dietas es el pH ruminal, esto debido a que a un pH ligeramente ácido los aceites esenciales se encuentran en un estado no disociado y por lo tanto en forma hidrofóbica, lo cual les permite interactuar de forma más fácil con las membranas microbianas y por tanto modificar la población ruminal y la proporción y producción de ácidos grasos volátiles; además, el perfil de los principios activos que contenga el aceite esencial influye en la cantidad y proporción de los ácidos grasos volátiles producidos (Polin *et al.*, 2014).

Las modificaciones en el total y proporción de los ácidos grasos volátiles impactan sobre los perfiles de producción de metano, sobre todo si reduce la proporción de acetato y se incrementa la de propionato, por lo tanto, cambios en estos repercutirán positiva o negativamente en la producción de metano.

Como ya se ha mencionado, algunos aceites esenciales inhiben a las bacterias generadoras de nitrógeno, por tanto, la desaminación de las proteínas decrece, y se ha reportado hasta un 25 % en la reducción de estas bacterias cuando se utilizó aceite de orégano de entre 30 y 300 mg/L (Newbold *et al.*, 2004; Cardozo *et al.*, 2005). Es así como decrece la concentración de nitrógeno amoniacal en el rumen con el uso de aceites esenciales, y puede favorecer a un flujo mayor de las proteínas al intestino delgado. Cabe mencionar que los efectos sobre las bacterias productoras de nitrógeno son dependientes del tipo y cantidad de proteína en la dieta. Aunque este tipo de bacterias representa sólo el 1 % del total de la población bacteriana en el rumen, poseen una actividad alta de desaminación (Polin *et al.*, 2014).

Los resultados en los que se ha evaluado la mitigación del metano como objetivo de la inclusión en las dietas de aceites esenciales son pocos e inconsistentes. Se ha observado que el timol, mayor componente derivado del *Thymus v.* y *Origanum v.*, a dosis de 400 mg/L inhibe consistentemente el metano

in vitro (Evans y Martin, 2000). En otros trabajos in vitro también con timol a dosis de 900 mg/L, observaron una mitigación en la producción del metano hasta un 99 % en relación con el tratamiento testigo (Chaves *et al.*, 2008a). El principal componente activo del aceite de canela es el cinemaldehído, el cual a dosis de 660 mg/L disminuye la producción de metano hasta en un 94 % (Macheboeuf *et al.*, 2008). El aceite de eucalipto inhibe la producción de metano en un 58 % con dosis de 1.66 mL/L (Kumar *et al.*, 2009), 90.3 % a 2 ml/L (Sallam *et al.*, 2009), y 70 % a 330 mg/L el aceite  $\alpha$ -ciclodextrinaeucalipto (Sallam *et al.*, 2009).

Estudios realizados con bovinos productores de carne en los que se usó una mezcla comercial de aceites esenciales (timol, eugenol, vainillina y limoneno) a 1 g/d, durante 25 días, no encontraron diferencias en la producción de metano en comparación con el tratamiento control (Beauchemin *et al.*, 2009), y tampoco se encontraron diferencias en estudios con aceite de pino a dosis de 8 mg/L (Soliva *et al.*, 2008). En el cuadro 4 se muestran los resultados de las investigaciones en las que se han evaluado in vivo la inclusión en las dietas con diferentes EO y dosis en vacas lecheras, sobre la respuesta en la producción de metano y AGV totales.

Cuadro 4. Efecto de la adición de diferentes aceites esenciales y dosis sobre el consumo, producción de leche, metano y ácidos grasos volátiles totales en vacas lecheras, en diferentes estudios. Estimación de las diferencias porcentuales con respecto al tratamiento testigo.

Aceite esencial	Dosis g/d	CMS (%)	Producción de leche (%)	Producción de metano <sup>1</sup> (%)	AGVs totales (%)	Referencia
MAE	0.32	-1.52	-3.76	ND	ND	Santos <i>et al.</i> (2010)
MAE	0.64	-1.01	-2.13	ND	ND	Santos <i>et al.</i> (2010)
MAE	0.96	-0.50	-2.25	ND	ND	Santos <i>et al.</i> (2010)
MAE	2.0	-2.62	-0.87	-2.74	-7.63	Benchaar <i>et al.</i> (2006 <sup>b</sup> )
MAE	0.75	-0.57	-5.9	5.20	5.09	Benchaar <i>et al.</i> (2007)
MAE	0.75	-1.12	-0.5	-1.32	-10.31	Benchaar <i>et al.</i> (2007)
Cinemaldehído	1.0	-0.43	1.78	0.89	0.49	Benchaar <i>et al.</i> (2008)
Aceite de ajo	5.0	-1.44	3.10	-2.24	-1.47	Yang <i>et al.</i> (2007)
Aceite de enebro	2.0	-0.96	1.37	2.82	-0.62	Yang <i>et al.</i> (2007)
Dialil disulfuro	13.88	1.71	-2.31	ND	ND	Zijderveld <i>et al.</i> (2009)
Dialil disulfuro	10.02	1.29	-2.64	ND	ND	Zijderveld <i>et al.</i> (2011)
Dialil disulfuro	3.36	-5.08	1.63	ND	ND	Zijderveld <i>et al.</i> (2011)
Carvacrol	6.35	-2.62	1.46	0.60	-2.49	Tekippe <i>et al.</i> (2011)
MAE	1.2	7.19	4.77	ND	ND	Kung <i>et al.</i> (2008)
MAE	1.87	-3.84	1.03	-7.27	2.48	Mossaad <i>et al.</i> (2009)
MAE	3.96	-3.84	-3.67	-6.13	2.90	Mossaad <i>et al.</i> (2009)
MAE	6.13	-2.19	-1.37	-1.17	0.77	Mossaad <i>et al.</i> (2009)
MAE	1.0	-5.10	0.08	ND	ND	Santos <i>et al.</i> (2010)

MAE	0.5	-2.51	-0.06	-3.93	-0.92	Tager y Krause (2011)
MAE	10.0	-2.92	-4.24	-1.11	0.00	Tager y Krause (2011)
Aceite de pimienta	0.25	-4.18	-5.75	2.17	1.00	Tager y Krause (2011)
MAE	1.2	-5.07	ND	ND	ND	Tassoul y Shaver (2009)
MAE	1.2	-7.34	-0.2	ND	ND	Tassoul y Shaver (2009)

MAE= Mezcla de aceites esenciales; CMS= Consumo de materia seca; AGVs= Ácidos grasos volátiles; ND= No determinado; <sup>1</sup>= CH<sub>4</sub> = 0.45 (acetato) – 0.275 (propionato) + 0.4 (butirato) (Moss *et al.*, 2000)

Adaptada de Polin *et al.* (2014)

### Efecto en el comportamiento productivo de rumiantes

Los efectos positivos de la inclusión de aceites esenciales sobre la digestibilidad del alimento se dan por dos razones principalmente; primero, se reduce la degradación de la proteína en el rumen al inhibir la proliferación de bacterias productoras de nitrógeno amoniacal o proteolíticas, y segundo, se reduce la degradación de almidones como respuesta a la inhibición de microorganismos amilolíticos, favoreciendo en cantidad el flujo de estos dos nutrientes al intestino.

En muchos de los estudios la digestibilidad del alimento no se modificó por EO (Malecky *et al.*, 2009; Meyer *et al.*, 2009; Santos *et al.*, 2010). Sin embargo, otros estudios muestran que dosis de 500 mg de aceite de orégano en ovinos repercute en una alta concentración de proteína a nivel ruminal, pero por otro lado se afectó la digestibilidad total de nutrientes (Kozelov *et al.*, 2001). Reportes in vivo en vacas lecheras con dosis de aceite esencial de enebro de 2 g/d, mostraron un aumento en la digestibilidad de la materia seca en un 13 % utilizando dietas con 40:60 forraje-concentrado; estos investigadores explican que el efecto puede ser debido a que se incrementó la digestibilidad de la proteína de manera significativa en un 11 %, pero también puede deberse a un ligero incremento de digestibilidad de otros nutrientes (Yang *et al.*, 2007). Sin embargo, dosis altas de aceites esenciales decrecen la digestibilidad de MS, atribuible esto a la disminución de la digestibilidad de la fibra a nivel ruminal (Beauchemin *et al.*, 2009; Yang *et al.*, 2010a).

Al igual que en muchos otros casos, la respuesta de la adición de aceites esenciales en dietas para rumiantes sobre el consumo de materia seca depende también del tipo de aceite esencial y la dosis. Estudios realizados con altas dosis

de cinemaldehído 500 mg/d en vacas productoras de leche (Busquet *et al.*, 2003), mezcla de cinemaldehído 500 mg/d y eugenol 90 mg/d en bovinos productores de carne (Cardozo *et al.*, 2006), se observó afectado el consumo de alimento, lo cual puede ser atribuido a la palatabilidad que adquieren los diferentes tipos de alimentos para el ganado cuando se les adicionan cantidades altas de EO. Otro estudio demostró claramente que el cinemaldehído tiene efecto positivo en el consumo de alimento en 10.3 % con dosis bajas de 400 mg/d, pero que dosis altas de 1.6 g/d el consumo se mantiene igual en comparación con el tratamiento control en novillos (Yang *et al.*, 2010<sub>b</sub>).

Al igual que en el consumo de materia seca, la respuesta en cuanto a ganancia diaria de peso es inconsistente y depende del tipo de aceite esencial y la dosis. En estudios en los que se evaluó la ganancia diaria de peso en ovinos con inclusión en la dieta de hojas de orégano (144 o 280 mg/kg MS) no se observaron diferencias con respecto al tratamiento control (Bampidis *et al.*, 2005); tampoco en estudios realizados con bovinos productores de carne, con dosis de 2 o 4 mg/d de una mezcla de aceites esenciales (timol, eugenol, vainillina y limoneno), ni en la media de ganancia diaria de peso con respecto al tratamiento control (Benchaar *et al.*, 2006<sub>a</sub>). En los cuadros 5 y 6 se muestran los resultados de las investigaciones en las que se han evaluado la inclusión de diferentes EO y dosis, en bovinos y ovinos, sobre el consumo y la ganancia promedio de peso.

Cuadro 5. Efecto de la adición de diferentes aceites esenciales y dosis sobre el consumo, promedio de ganancia diaria, metano y ácidos grasos volátiles totales en bovinos productores de carne, en diferentes estudios. Estimación de las diferencias porcentuales con respecto al tratamiento testigo.

Tratamiento	Dosis g/d	CMS (%)	GDP (%)	Producción de metano <sup>1</sup> (%)	AGVs totales (%)	Referencia
MAE	1.0	-0.82	2.84	ND	ND	Meyer <i>et al.</i> (2009)
MAE	1.09	-1.65	3.97	ND	ND	Meyer <i>et al.</i> (2009)
MAE	1.0	13.95	ND	-13.83	14.65	Meyer <i>et al.</i> (2009)
MAE	1.0	2.32	ND	-9.86	8.69	Meyer <i>et al.</i> (2009)
Cinemaldehído	0.4	10.30	ND	-10.21	2.71	Yang <i>et al.</i> (2010 <sup>b</sup> )
Cinemaldehído	0.8	4.12	ND	-3.09	1.64	Yang <i>et al.</i> (2010 <sup>b</sup> )
Cinemaldehído	1.6	-10.30	ND	-8.91	3.07	Yang <i>et al.</i> (2010 <sup>b</sup> )
Cinemaldehído	0.4	8.22	4.16	ND	ND	Tassoul y Shaver (2009)
Cinemaldehído	0.8	5.01	-1.78	ND	ND	Tassoul y Shaver (2009)
Cinemaldehído	1.6	-2.44	-2.38	ND	ND	Tassoul y Shaver (2009)
Eugenol	0.4	1.59	ND	ND	-1.06	Yang <i>et al.</i> (2010 <sup>a</sup> )

Eugenol	0.8	4.99	ND	ND	-4.66	Yang <i>et al.</i> (2010 <sup>a</sup> )
Eugenol	1.6	2.55	ND	ND	-6.14	Yang <i>et al.</i> (2010 <sup>a</sup> )
MAE	1.0	-2.41	-6.84	-1.72	-3.51	Beauchemin <i>et al.</i> (2009)
Cinmaldehído	0.27	-17.04	ND	9.77	-2.61	Cardozo <i>et al.</i> (2006)
Aceite de anís	2.0	5.6	ND	-12.69	0.25	Cardozo <i>et al.</i> (2006)
Aceite de pimienta	1.0	9.21	ND	-11.67	-0.38	Cardozo <i>et al.</i> (2006)
Cinmaldehído	0.9	2.63	ND	-11.34	-1.41	Cardozo <i>et al.</i> (2006)
Aceite de pimienta	0.5	10.66	ND	-1.10	-0.53	Fandiño <i>et al.</i> (2008)
Aceite de anís	0.5	2.66	ND	-4.65	-1.59	Fandiño <i>et al.</i> (2008)

MAE= Mezcla de aceites esenciales; CMS= Consumo de materia seca; GDP= Ganancia diaria de peso; AGVs= Ácidos grasos volátiles; ND= No determinado; <sup>1</sup>= CH<sub>4</sub> = 0.45 (acetato) – 0.275 (propionato) + 0.4 (butirato) (Moss *et al.*, 2000)

Adaptada de Polin *et al.* (2014)

Constan reportes en los que la adición de mezclas comerciales de EO (timol, eugenol, vainillina y limoneno) ha incrementado la producción en ganado lechero (Kung *et al.*, 2008). También que la alimentación con una mezcla de EO conteniendo eugenol, extracto de geranio y aceite de cilantro, como el mayor componente este último y en una dosis de 500 mg por vaca por día incrementa el porcentaje de grasa en leche (Santos *et al.*, 2010). Esto puede deberse al cambio en la proporción de ácidos grasos volátiles, acetato o proporción de acetato-propionato, que pueden modificarse con la inclusión de aceites esenciales, o por el cambio de aporte energético y el mejoramiento de la condición corporal por la mejoría en la alimentación (Polin *et al.*, 2014).

Cuadro 6. Efecto de la adición de diferentes aceites esenciales y dosis sobre el consumo, promedio de ganancia diaria, metano y ácidos grasos volátiles totales en ovinos, en diferentes estudios. Estimación de las diferencias porcentuales con respecto al tratamiento testigo.

Tratamiento	Dosis g/d	CMS (%)	GDP (%)	Producción de metano <sup>1</sup> (%)	AGVs totales (%)	Referencia
Cinmaldehído	0.238	4.64	15.40	-17.04	16.04	Chaves <i>et al.</i> (2008 <sup>c</sup> )
Aceite de ajo	0.227	-0.31	1.19	-7.35	24.44	Chaves <i>et al.</i> (2008 <sup>c</sup> )
Aceite de enebro	0.24	5.11	17.34	-20.69	25.43	Chaves <i>et al.</i> (2008 <sup>c</sup> )
Dialil disulfuro	4.61	0.26	ND	3.13	-3.65	Klevenhusen <i>et al.</i> (2011 <sup>a</sup> )
Lovastatina	0.092	0.34	ND	2.48	-5.43	Klevenhusen <i>et al.</i> (2011 <sup>a</sup> )
Aceite de ajo	5.31	-5.85	ND	1.29	-9.30	Klevenhusen <i>et al.</i> (2011 <sup>b</sup> )
Dialil disulfuro	2.19	-2.92	ND	-0.40	-9.30	Klevenhusen <i>et al.</i> (2011 <sup>b</sup> )
Aceite de ajo	0.5*	ND	ND	-4.445	-0.66	Anassori <i>et al.</i> (2011)
Aceite de ajo	0.5*	ND	ND	-4.97	-0.49	Anassori <i>et al.</i> (2011)
Aceite de ajo	0.75*	ND	ND	-5.40	-0.66	Anassori <i>et al.</i> (2011)
MAE	0.11	ND	ND	2.43	-7.02	Castillejos <i>et al.</i> (2007)
Carvacrol	0.2	-4.48	7.18	-9.59	13.68	Chaves <i>et al.</i> (2008 <sup>b</sup> )
Cinmaldehído	0.2	0.41	8.35	-10.58	19.03	Chaves <i>et al.</i> (2008 <sup>b</sup> )
Carvacrol	0.2	5.24	1.61	-3.58	5.94	Chaves <i>et al.</i> (2008 <sup>b</sup> )
Cinmaldehído	0.2	13.59	3.29	11.28	10.72	Chaves <i>et al.</i> (2008 <sup>b</sup> )
Cinmaldehído	0.1	0.19	-0.12	8.91	-8.68	Chaves <i>et al.</i> (2011)
Cinmaldehído	0.2	3.32	6.78	-1.56	-22.08	Chaves <i>et al.</i> (2011)
Cinmaldehído	0.4	1.81	-2.17	-2.30	-27.46	Chaves <i>et al.</i> (2011)



---

MAE= Mezcla de aceites esenciales; CMS= Consumo de materia seca; GDP= Ganancia diaria de peso; AGVs= Ácidos grasos volátiles; \* g/kg de materia seca; ND= No determinado;  $^1 = \text{CH}_4 = 0.45 \text{ (acetato)} - 0.275 \text{ (propionato)} + 0.4 \text{ (butirato)}$  (Moss *et al.*, 2000)

Adaptada de Polin *et al.*, 2014

## **HIPOTESIS**

La suplementación de aceites esenciales en comparación con la inclusión de monensina en las dietas, mejora la respuesta productiva y las características de la canal de ovinos alimentados con dietas de alta energía en la fase de finalización

## **OBJETIVO**

Comparar la respuesta productiva y características de la canal de ovinos alimentados con dietas de alta energía en finalización al ser suplementados con aceites esenciales y monensina sódica.

## LITERATURA CITADA

- Acedo, J., and R. González. 1998. Utilización de aditivos en piensos para rumiantes: minerales forma orgánica, levaduras, enzimas, ionóforos y otros. XIV Curso de Especialización FEDNA: Avances en nutrición y alimentación animal. Madrid, España.
- Aguilar, J., J. Urías, M. López, A. Barreras, A. Plascencia, M. Montaña, V. González, A. Estrada, B. Castro, R. Barajas, H. Rogge, and R. Zinn. 2016. Evaluation of isoquinoline alkaloid supplementation levels on ruminal fermentation, characteristics of digestion, and microbial protein synthesis in steers fed a high-energy diet. *Journal of Animal Science* 94:267-274.
- Anassori, E., D. Bahram, P. Rasoul, T. Akbar, A. Siamak, M. Masoud, F. Safa, and F. Parviz. 2011. Garlic: A potential alternative for monensin as a rumen Modifier. *Livestock Science* doi:10.1016/j.livsci.2011.08.003.
- Arowolo, M., and J. He. 2018. Use of probiotics and botanical extracts to improve ruminant production in the tropics: A review. *Animal Nutrition* 4:241-249.
- Bampidis, V., V. Christodoulou, P. Florou-Paneri, E. Christaki, A. Spais, and P. Chatzopoulou. 2005. Effect of dietary dried oregano leaves supplementation on performance and carcass characteristics of growing lambs. *Animal Feed Science and Technology* 121:285-295.
- Beauchemin, K., S. McGinn, and T. McAllister. 2009. Dietary mitigation of enteric methane from cattle. *CAB Rev. Perspectives in Agriculture, Veterinary Science Nutrition and Natural Resources* 4:1-18.
- Benchaar, C., J. Duynisveld, and E. Charmley. 2006a. Effects of monensin and increasing dose levels of a mixture of essential oil compounds on intake, digestion, and growth performance of beef cattle. *Canadian Journal of Animal Science* 86:91-96.
- Benchaar, C., H. Petit, R. Berthiaume, T. Whyte, and P. Chouinard. 2006b. Effects of addition of essential oils and monensin premix on digestion, ruminal

fermentation, milk production and milk composition in dairy cows. *Journal of Dairy Science* 89:4352-4364.

Benchaar, C., H. Petit, R. Berthiaume, D. Ouellet, J. Chiquette, P. Chouinard. 2007. Effects of essential oils on digestion, ruminal fermentation, ruminal microbial populations, milk production and milk composition in dairy cows fed alfalfa silage or corn silage. *Journal of Dairy Science* 90:886-897.

Benchaar, C., T. McAllister, and P. Chouinard. 2008. Digestion, ruminal fermentation, ciliate protozoal populations, and milk production from dairy cows fed cinnamaldehyde, quebracho condensed tannin, or *Yucca schidigera* saponin extracts. *Journal of Dairy Science* 91:4765-4777.

Busquet, M., H. Greathead, S. Calsamiglia, A. Ferret, and C. Kamel. 2003. Efecto del extracto de ajo y el cinemaldehido sobre la producción, composición y residuos en leche en vacas de alta producción. *Texas Education Agency* 24:756-758.

Caja, G., E. González, C. Flores, M. Carro, and E. Albanell. 2003. Alternativas a los antibióticos de uso alimentario en rumiantes: probióticos, enzimas y ácidos orgánicos. XIX Curso de Especialización FEDNA. Madrid, España.

Callaway, T., T. Edrington, J. Rychlik, K. Genovese, T. Poole, Y. Jung, K. Bischoff, R. Anderson, and D. Nisbet. 2003. Ionophores: Their use as ruminant growth promotants and impact on food safety. *Current Issues in Intestinal Microbiology* 4:43-51.

Cardozo, P., S. Calsamiglia, A. Ferret, and C. Kamel. 2005. Screening for the effects of natural plant extracts at different pH on in vitro rumen microbial fermentation of a high concentrate diet for beef cattle. *Journal of Dairy Science* 83:2572-2579.

Cardozo, P., S. Calsamiglia, A. Ferret, and C. Kamel. 2006. Effects of alfalfa extract, anise, capsicum and a mixture of cinnamaldehyde and eugenol on ruminal fermentation and protein degradation in beef heifers fed a high-concentrate diet. *Journal of Animal Science* 84:2801-2808.

- Carro, M., and M. Ranilla. 2002. Los aditivos antibióticos promotores del crecimiento de los animales: situación actual y posibles alternativas. *Información Veterinaria* 238:35-45.
- Castillejos, L., S. Calsamiglia, A. Ferret, and R. Losa. 2005. Effects of a specific blend of essential oil compounds and the type of diet on rumen microbial fermentation and nutrient flow from a continuous culture system. *Animal Feed Science and Technology* 119:29-41.
- Castillejos, L., S. Calsamiglia, A. Ferret, and R. Losa. 2007. Effects of dose and adaptation time of a specific blend of essential oils compounds on rumen fermentation. *Animal Feed Science and Technology* 132:186-201.
- Chaves, A., M. He, W. Yang, A. Hristov, T. McAllister, and C. Benchaar. 2008a. Effects of essential oils on proteolytic, deaminative and methanogenic activities of mixed ruminal bacteria. *Canadian Journal of Animal Science* 89:97-104.
- Chaves, A., K. Stanford, L. Gibson, T. McAllister, and C. Benchaar. 2008b. Effects of carvacrol and cinnamaldehyde on intake, rumen fermentation, growth performance and carcass characteristics of growing lambs. *Animal Feed Science and Technology* 145:396-408.
- Chaves, A., K. Stanford, M. Dugan, L. Gibson, T. McAllister, F. Van-Herk, and C. Benchaar. 2008c. Effects of cinnamaldehyde, garlic and juniper berry essential oils on rumen fermentation, blood metabolites, growth performance and carcass characteristics of growing lambs. *Livestock Science* 117:215-224.
- Chaves, A., M. Dugan, K. Stanford, L. Gibson, J. Bystrom, T. McAllister, F. Van-Herk, and C. Benchaar. 2011. A dose-response of cinnamaldehyde supplementation on intake, ruminal fermentation, blood metabolites, growth performance, and carcass characteristics of growing lambs. *Livestock Science* doi:10.1016/j.livsci.2011.06.006.

- Chouhan, S., K. Sharma, and S. Guleira. 2017. Antimicrobial Activity of Some Essential Oils—Present Status and Future Perspectives. *Medicines* 4:58.
- Duffield, T., J. Merrill, and R. Bagg. 2012. Meta-analysis of the effects of monensin in beef cattle on feed efficiency, body weight gain, and dry matter intake. *Journal of Animal Science* 90:4583-4592.
- Evans, D., and S. Martin. 2000. Effects of thymol on ruminal microorganisms. *Current Microbiology* 41:336–340.
- Fandiño, I., S. Calsamiglia, A. Ferret, and M. Blanch. 2008. Anise and capsicum as alternatives to monensin to modify rumen fermentation in beef heifers fed a high concentrate diet. *Animal Feed Science and Technology* 145:409-417.
- Frutos, P., G. Hervás, F. Giráldez, and R. Mantecón. 2004. Review. Tannins and ruminant nutrition. *Spanish Journal of Agricultural Research* 2:191-202.
- García, Y., and Y. García. 2015. Uso de aditivos en la alimentación animal: 50 años de experiencia en el Instituto de Ciencia Animal. *Revista Cubana de Ciencia Agrícola* 49:173-177.
- Gonçalves, M., J. Martins, M. Oliveira, C. Carvalho, M. Antunes, I. Ferreira, C. Pereira, and L. Olivalves. 2012. Ionóforos na alimentação de bovinos. *Veterinária Notícias* 18:131-146.
- Kart, A., and B. Ali. 2008. Ionophore antibiotics: toxicity, mode of action and neurotoxic aspect of carboxylic ionophores. *Journal of Animal and Veterinary Advances* 7:748-751.
- Kelvenhusen, F., L. Meile, M. Kreuzer, and C. Soliva. 2011a. Effects of monolaurin on ruminal methanogens and selected bacterial species from cattle, as determined with the rumen simulation technique. *Anaerobe* 17:232-238.
- Klevenhusen, F., J. Zeitza, S. Duvalb, M. Kreuzera, and C. Soliva. 2011b. Garlic oil and its principal component diallyl disulfide fail to mitigate methane, but

- improve digestibility in sheep. *Animal Feed Science and Technology* 166-167:356-363.
- Kozelov, L., F. Tliev, J. Profirov, I. Nikolov, G. Ganev, T. Modeva, and M. Krasteva. 2001. The effect of supplementing sheep with Ropadiar on digestibility and fermentation in the rumen. *Zhivotnov Dni Nuki* 3:152-154.
- Kumar, R., D. Kamra, N. Agrawal, and L. Chaudhary. 2009. Effect of eucalyptus (*Eucalyptus globules*) oil on in vitro methanogenesis and fermentation of feed with buffalo rumen liquor. *Animal Nutrition Feed and Technology* 9:237-243.
- Kung, L., P. Williams, R. Schmidt, and W. Hu. 2008. A blend of essential plant oils used as an additive to alter silage fermentation or used as a feed additive for lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science* 91:4793-4800.
- Lizcano, A., and J. Vergara. 2008. Evaluación de la actividad antimicrobiana de los extractos etanolicos y/o aceites esenciales de las especies vegetales *Valeriana pilosa*, *Hesperomeles ferruginea*, *Myrcianthes rhopaloides* y *Passiflora manicata* frente a microorganismos patógenos y fitopatógenos. Pontifica Universidad Javeriana. Bogotá, Colombia.
- López, S., R. Bodas, and M. Fernández. 2002. Uso de plantas medicinales en alimentación animal. *Revista Mundo Ganadero* 144:44-46.
- Macheboeuf, D., D. Morgavi, Y. Papon, J. Mousset, M. Arturo-Schaan. 2008. Dose-response effects of essential oils on in vitro fermentation activity of the rumen microbial population. *Animal Feed Science and Technology* 145:335-350.
- Malecky, M., L. Broudiscou, and P. Schmidely. 2009. Effects of two levels of monoterpene blend on rumen fermentation, terpene and nutrient flows in the duodenum and milk production in dairy goats. *Animal Feed Science and Technology* 154:24-35.

- Markantonatos, X., and G. Varga. 2017. Effects of monensin on glucose metabolism in transition dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 100:9020-9035.
- Martínez, R. 2008. Influencia del riego sobre el rendimiento en cultivo de tres especies del genero *Thymus*. Estudio de la variabilidad intraespecífica. Instituto Murciano de Investigación y Desarrollo Agrario y Alimentario. Murcia, España.
- Martínez, R., M. Ortega, J. Herrera, J. Kawas, J. Zarate, and R. Robles. 2015. Uso de aceites esenciales en animales de granja. *Interciencia* 40:744-750.
- Mencio, J., P. López, M. D. Mariezcurrena, M. A. Mariezcurrena, and B. Ortiz. 2014. Efecto de dietas suplementadas con taninos sobre la calidad bromatológica de carne bovina. *Ingeniería Agrícola y Biosistemas*.
- Meyer, N., G. Erickson, T. Klopfenstein, M. Greenquist, M. Luebbe, P. Williams, and M. Engstrom. 2009. Effect of essential oils, tylosin and monensin on finishing steer performance, carcass characteristics, liver abscesses, ruminal fermentation and digestibility. *Journal of Animal Science* 87:2346-2354.
- Michels, A., M. Neumann, G. Mattos, A. Reck, H. Godoi, L. Sâmia, A. Martins, L. Dos Santos, and E. Stadler. 2018. Isoquinoline alkaloids supplementation on performance and carcass traits of feedlot bulls. *Asian-Australasian Journal of Animal Science* 31:1474-1480.
- Min, B., W. Pinchak, R. Anderson, and M. Hume. 2016. In vitro bacterial growth and in vivo rumen microbiota populations associated with potential bloat dynamics in winter wheat. *Journal of Animal Science* 84:2546-54.
- Mossaad, A., A. Ramadan, and I. Saad. 2009. Influence of essential oils supplementation on digestion, rumen fermentation, rumen microbial population and productive performance on dairy cows. *Asian Journal of Animal Science* 3:1-12.



- Neumann, M., R. Ueno, J. Heker, E. Askel, A. Souza, G. Vigne, M. Poczynek, M. Coelho, and A. Eto. 2018. Growth performance and safety of meat from cattle feedlot finished with monensin in the ration. *Semina: Ciências Agrárias* 39:697-710.
- Newbold, C., F. Mcintosh, P. Williams, R. Losa, and R. Wallace. 2004. Effects of a specific blend of essential oil compounds on rumen fermentation. *Animal Feed Science and Technology* 114:105-112.
- Peña, D. 2011. Evaluación de la actividad antibacteriana de los alcaloides provenientes de las hojas de *Siparuna sessiliflora*. Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá, Colombia.
- Pereira, V., J. Chapel, R. Rodríguez, I. Orjales, R. Domínguez, and P. Vázquez. 2017. Los extractos vegetales son una alternativa natural a los antibióticos. *Revista Albéitar*.
- Polin, L., A. Muro, and L. Díaz. 2014. Aceites esenciales modificadores de perfiles de fermentación ruminal y mitigación de metano en rumiantes. Revisión. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias* 5:25-47.
- Ravindran, V. 2010. Aditivos en la alimentación animal: presente y futuro. XXVI Curso de Especialización FEDNA. Madrid, España.
- Rivera, C., A. Plascencia, N. Torrentera, and R. Zinn. 2017. Effect of level and source of supplemental tannin on growth performance of steers during the late finishing phase. *Journal of Applied Animal Research* 45:199-203.
- Rojas, L., B. Castro, A. Estrada, C. Angulo, and J. Yocupicio. 2017. Influence of long-term supplementation of tannins on growth performance, dietary net energy and carcass characteristics: finishing lambs. *Small Ruminant Research* 06:010.
- Russell, J. 1987. A proposed mechanism of monensin action in inhibiting ruminal bacterial growth: effects on ion flux and protonmotive force. *Journal of Animal Science* 64:1519-1525.

- Sallam, S., I. Bueno, P. Brigide, P. Godoy, D. Vitti, and A. Abdalla. 2009. Efficacy of eucalyptus oil on in vitro rumen fermentation and methane production. *Options Mediterraneennes* 85:267-272.
- Santos, M., P. Robinson, P. Williams, and R. Losa. 2010. Effects of addition of an essential oil complex to the diet of lactating dairy cows on whole tract digestion of nutrients and productive performance. *Animal Feed Science and Technology* 157:64-71.
- Soliva, C., S. Widmer, and M. Kreuzer. 2008. Ruminant fermentation of mixed diets supplemented with St. Johns Wort (*Hypericum perforatum*) flowers and pine (*Pinus mugo*) oil or mixtures containing these preparations. *Animal Feed Science and Technology* 17:352-362.
- Tager, L., and K. Krause. 2011. Effects of essential oils on rumen fermentation, milk production, and feeding behavior in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science* 94:2455-2464.
- Tassoul, M., and R. Shaver. 2009. Effect of a mixture of supplemental dietary plant essential oils on performance of periparturient and early lactation dairy cows. *Journal of Dairy Science* 92:1734-1740.
- Tekippe, J., A. Hristov, A. Heyler, K. Cassidy, T. Zheljazkov, V. Ferreira, J. Karnati, and G. Varga. Rumen fermentation and production effects of *Origanum vulgare* L. leaves in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science* 94:5065-5079.
- Wang, C., S. Wang, and H. Zhou. 2009. Influences of flavomycin, ropadiar and saponin on nutrient digestibility, rumen fermentation and methane emission from sheep. *Animal Feed Science and Technology* 148:157-166.
- Yang, W., C. Benchaar, B. Ametaj, A. Chaves, M. He, and T. McAllister. 2007. Effects of garlic and juniper berry essential oils on ruminal fermentation and on the site and extent of digestion in lactating cows. *Journal of Dairy Science* 90:5671-5681.

- Yang, W., B. Ametaj, C. Benchaar, and K. Beauchemin. 2010a. Dose response to cinnamaldehyde supplementation in growing beef heifers: Ruminal and intestinal digestion. *Journal of Animal Science* 88:680-688.
- Yang, W., B. Ametaj, C. Benchaar, M. He, and K. Beauchemin. 2010b. Cinnamaldehyde in feedlot cattle diets: Intake, growth performance, carcass characteristics and blood metabolites. *Journal of Animal Science* 88:1082-1092.
- Zijderveld, S., J. Newbold, and H. Perdok. 2009. Methane mitigation potential of a garlic derivative, yucca powder and calcium fumarate in dairy cattle. Provimi Research and Innovation Centre, Brussels, Belgium. Wageningen University, Wageningen, the Netherlands.
- Zijderveld, S., J. Dijkstra, H. Perdok, J. Newbold, and W. Gerrits. 2011. Dietary inclusion of diallyl disulfide, yucca powder, calcium fumarate, an extruded linseed product, or medium-chain fatty acids does not affect methane production in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science* 94:3094-3104.

1 **Head title: essential oils in finishing lambs**

2

3 **Evaluation of a standardized mixture of supplemental essential oils vs**  
4 **monensin on growth performance, dietary energetics and carcass**  
5 **characteristics of lambs fed a high-energy finishing diet**

6

7 Y.J. Arteaga-Wences<sup>a</sup>, A. Estrada-Angulo<sup>a\*</sup>, F.G. Gerardo Ríos-Rincón<sup>a</sup>, B.I. Castro-Pérez<sup>a</sup>,  
8 D.A. Mendoza-Cortez<sup>b</sup>, O. M. Manriquez-Núñez<sup>b</sup>, A. Barreras<sup>b</sup>, L. Corona-Gochi<sup>c</sup>, R.A. Zinn<sup>d</sup>,  
9 X.P. Perea-Domínguez<sup>f</sup>, and A. Plascencia<sup>f†\*</sup>

10

11 <sup>a</sup> *Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma de Sinaloa, Blv. San Angel, CP 80260,*  
12 *Sinaloa, México*

13 <sup>b</sup> *Instituto de Investigaciones en Ciencias Veterinarias. Universidad Autónoma de Baja California. Km 4.5 carretera*  
14 *Mexicali-San Felipe, CP 21386, Mexicali, Baja California, México.*

15 *Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, Col. CU, Coyoacán,*  
16 *CP 04510, Cd. De México, México*

17 <sup>d</sup> *Animal Science Department, University of California, Davis 95616*

18 <sup>f</sup> *Departamento de Ciencias naturales y Exactas, Universidad Autónoma de Occidente, Av. Universidad S/N,*  
19 *Flamingos, CP 81048, Guasave, Sinaloa, México*

20

21

22

23 †Corresponding author at: Departamento de Ciencias naturales y Exactas, Universidad Autónoma de  
24 Occidente, Guasave, México

25 \*\* Corresponding authors.

26 E-mail address: [aplas\\_99@yahoo.com](mailto:aplas_99@yahoo.com) (A. Plascencia), [alfred\\_vet@hotmail.com](mailto:alfred_vet@hotmail.com) (A. Estrada).

ARTICULO ENVIADO A LA REVISTA: "SMALL RUMINANT RESEARCH"

27           **Abstract:** Thirty-six Pelibuey × Katahdin crossbred intact male lambs (28.5±3.5) were  
28 used in a 56-d experiment to evaluate the effects of a standardized source of essential oils (EO)  
29 versus monensin sodium (MON) on growth performance, dietary energetic, and carcass  
30 characteristics. Lambs that were fed with high energy finishing diet were daily supplemented  
31 with 30 mg MON/lamb or with 150 mg EO/lamb. Additionally, an un-supplemented treatment  
32 was included as a negative control. Water consumption between EO and Controls lambs was  
33 very similar. In contrast, lambs fed MON consumed 18.1% less ( $P<0.01$ ) water than Controls  
34 and EO groups. Compared to Controls, EO improved ( $P<0.05$ ) gain efficiency, estimated dietary  
35 net energy (NE). Compared to MON, supplemental EO increased ( $P<0.05$ ) dry matter intake  
36 (DMI), average daily gain (ADG) and gain efficiency, and tended ( $P=0.09$ ) to increase estimated  
37 dietary NE. Compared to Controls, lambs fed MON decreased DMI and ADG but without  
38 showing difference on gain efficiency and estimated dietary NE. With exception of carcass  
39 weight (lambs fed MON had lower hot carcass weight than Control and EO), there were no  
40 treatments effects on carcass composition. Compared with Controls, EO and MON  
41 supplementation decreased relative weights (as a proportion of empty body weight) of intestine  
42 and omental fat. Compared with MON, EO decreased relative weight of mesenteric fat. We  
43 concluded that supplemental EO may enhance average daily gain and/or feed efficiency when  
44 compared with non-supplemented lambs or with lambs supplemented with monensin. Lambs fed  
45 with supplemental EO showed less visceral fat without negative effects on carcass characteristics  
46 or on visceral organ mass. As such, supplemental EO is a viable alternative to the antibiotic  
47 monensin in finishing high-energy diets for lambs.

48           **Keywords:** Lambs, Essential oils, Monensin, Growth performance, Dietary energy, Carcass.

## 49 **1. Introduction**

50 Since approval of monensin (MON) in the mid-1970's, ionophore supplementation  
51 (particularly MON) in growing-finishing diets has become the conventional feeding practice in  
52 several countries, with expectation of improved gain efficiency. This effect has been attributed to  
53 shifts in ruminal fermentation patterns toward increased molar proportions of propionate  
54 (Appuhamy et al., 2013), reduced ruminal degradation of dietary protein (Zinn, 1988), and  
55 reduced maintenance energy requirement (Barreras et al., 2013). Supplemental MON may also  
56 decrease the rate of feed consumption, thereby decreasing the risk of digestive dysfunction in  
57 feedlot cattle (Duffield et al., 2012) and in lambs (Safaei et al., 2014). As energy density of the  
58 diet increases ( $>1.37$  Mcal NE<sub>g</sub>/kg), the magnitude of improvement in gain efficiency due to  
59 MON supplementation has been variable, and frequently rather modest or even nil (Zinn et al.,  
60 1994; Duffield et al., 2012). Notwithstanding, MON continues to be widely used in finishing  
61 diets in several countries. Concerns related to continued use of supplemental antibiotics in diet  
62 formulations for livestock has directed research toward “generally-recognized-as-safe  
63 alternatives”. Dietary supplementation with essential oil compounds (**EO**; such thymol,  
64 limonene, eugenol, piperine, among others) has exhibited ionophore-like characteristics with  
65 antimicrobial properties that may slow the rate of ruminal starch digestion, increase ruminal  
66 propionate:acetate molar ratios, and reduce extent of ruminal feed protein degradation. (Koyunco  
67 and Canbolat, 2010; Samii et al., 2016, Meschiatti et al., 2016). To our knowledge, no  
68 information is available that evaluates the comparative effects of supplemental EO vs MON in  
69 finishing lambs fed high-energy diets (i.e.  $> 2.10$  Mcal NEm/kg DM) in which MON  
70 supplementation have shown modest effects. The objective of this experiment was to compare  
71 the influence of supplementation with a standardized mixture of essential oils (EO) vs monensin

72 sodium (MON) on growth performance, dietary energetic, and carcass characteristics in lambs  
73 fed a corn-based high-energy finishing diet. A non-supplemented treatment was included as a  
74 negative control.

## 75 **2. Material and methods**

76 This experiment was conducted at the Universidad Autónoma de Sinaloa Feedlot Lamb  
77 Research Unit, located in the Culiacán, México (24° 46' 13" N and 107° 21' 14" W). Culiacán is  
78 about 55 m above sea level, and has a tropical climate. During the course of the experiment, air  
79 temperature averaged 20.9 °C (minimum and maximum of 15.5 and 26.3°C, respectively) and  
80 relative humidity averaged 71.8% (minimum and maximum of 58.4 and 85.2%, respectively).  
81 All animal management procedures were conducted within the guidelines of locally-approved  
82 techniques (NOM-062-ZOO-1999) for animal use and care.

### 83 **2.1. Animal, diets, and samples analyses**

84 Thirty-six Pelibuey × Katahdin crossbred intact male lambs (28.5±3.5 kg) were used in a  
85 56-d growth-performance experiment to compare the effects of supplementation with of a  
86 mixture of essential oils (EO) vs sodium monensin (MON) on growth performance, dietary  
87 energetic, and carcass characteristics in lambs fed a corn-based high-energy finishing diet. Two  
88 weeks before initiation of the experiment the lambs were treated for parasites (Albendaphorte  
89 10%, Animal Health and Welfare, México City, México), injected with 1x10<sup>6</sup> IU vitamin A  
90 (Synt-ADE®, Fort Dodge, Animal Health, México City, México), and vaccinated for  
91 *Mannheimia haemolytica* (One shot Pfizer, México City, Mexico). Upon initiation of the  
92 experiment, lambs were weighed just prior to the morning meal (electronic scale; TORREY  
93 TIL/S: 107 2691, TORREY Electronics Inc., Houston TX, USA), blocked by weight and

94 assigned within weight groupings to 18 pens (2 lambs/pen, 6 pens/treatment). Pens were 6 m<sup>2</sup>  
95 with overhead shade, automatic waterers and 1 m fence-line feed bunks. Lambs were fed with  
96 cracked corn-based finishing diet (Table 1) and 3 treatments were tested as follows: 1) non  
97 supplemented (**Control**), 2) a daily supplementation with 30 mg MON/lamb (**MON**; Rumensin90,  
98 Elanco Animal Health, Indianapolis, IN), and 3) daily supplementation with 150 mg EO/lamb (**EO**,  
99 CRINA-Ruminants, DSM Nutritional Products, Basel, Switzerland, containing a standardized  
100 mixture of essential oils including thymol, eugenol, vanillin, guaiac, and limonene). Dose of EO  
101 mixture used was based on previous reports where 3-5 mg/kg LW resulted in maximal  
102 enhancements to ruminal propionate:acetate molar ratio and nutrient utilization (Giannenas et al.,  
103 2011; Katheri et al., 2017). Dietary treatments were randomly assigned to pens within blocks.  
104 Additives were premixed with ground rice hulls (Powder mixer, JETENGE-L, Mod 2002,  
105 Guadalajara, Jalisco, Mexico) to provide the desired dosage of MON (30 mg) or EO (150 mg) in  
106 10 g of final premix. The respective premix treatments were hand-weighed using a precision  
107 balance (Ohaus, mod AS612, Pine Brook, NJ, USA) and premixed for 5 min with minor  
108 ingredients (urea, limestone and trace mineral salt) before incorporation into complete mixed  
109 diets using a 2.5 m<sup>3</sup> capacity paddle mixer (model 30910-7, Coyoacán, México). To avoid  
110 contamination, the mixer was thoroughly cleaned before elaboration of each dietary treatment. To  
111 ensure additive consumption, the total daily dosage per lamb was concentrate in 300 g of diet  
112 provided in the morning feeding (all lambs were fed the basal Control diet in the afternoon feeding).  
113 Thus, lambs were provided fresh feed twice daily at 0800 and 1400 h, in which morning feed was  
114 offered constant, while afternoon feed was offered ad libitum to allowing for a feed residual of  
115 refusal of ~50 g/kg daily feed offering. Feed bunks were visually assessed between 0740 and 0750  
116 h each morning. Residual feed was collected and weighed. Water consumption was measured



117 daily at 0700 h by dipping a graduated rod into the tank drinker (one watering tank for each pen).  
118 Once the measure was taken, the remaining water was drained, and the tanks were refilled with  
119 fresh water.

120 Feed and residual feed samples were collected daily and composited weekly for DM analysis  
121 (oven drying at 105°C until no further weight loss; method 930.15, AOAC, 2000). Feed samples  
122 were subjected to the following analyses: DM (oven drying at 105°C until no further weight loss;  
123 method 930.15; AOAC, 2000); CP (N× 6.25, method 984.13; AOAC, 2000), and NDF [Van  
124 Soest et al., 1991, corrected for NDF-ash, incorporating heat stable  $\alpha$ -amylase (Ankom  
125 Technology, Macedon, NY).

## 126 *2.2 Calculations*

127 Estimates of daily weight gain (ADG), and dietary net energy were based shrunkbody  
128 weight (SBW; 96% of full live weight, Cannas et al., 2004). Average daily gain was computed by  
129 subtracting initial SBW from final SBW and dividing the result by the number of days on feed.  
130 Gain efficiency was computed as ADG/ daily DMI. Estimation of expected DMI was performed  
131 based on ADG and average SBW according to the following equation: expected DMI, kg/day =  
132  $(EM/NE_m) + (EG/EN_g)$ , where EM (energy required for maintenance, Mcal/day) =  $0.056 \times$   
133  $SBW^{0.75}$  (NRC, 1985), EG (energy gain, Mcal/d) =  $0.276 \times ADG \times SBW^{0.75}$  (NRC, 1985),  $NE_m$   
134 and  $NE_g$  are 2.09 and 1.43 Mcal/kg, respectively (derived from tabular values based on the  
135 ingredient composition of the experimental diet; NRC, 1985). The coefficient (0.276) was  
136 estimated assuming a mature weight of 113 kg for Pelibuey × Katahdin male lambs (Canton and  
137 Quintal, 2007). Dietary NE was estimated by means of the quadratic formula:  $x = (-b - \sqrt{b^2 -$   
138  $4ac}) / 2c$ , where:  $x = NE_m$ ,  $a = -0.41EM$ ,  $b = 0.877 EM + 0.41 DMI + EG$ , and  $c = -0.877 DMI$   
139 (Zinn et al., 2008).

### 140 **2.3. Carcass characteristics and whole cuts**

141 All lambs were harvested on the same day. After humanitarian sacrifice, lambs were  
142 skinned, and the gastrointestinal organs were separated and weighed. After carcasses (with  
143 kidneys and internal fat included) chilled in a cooler at -2 to 1°C for 48 h, the following  
144 measurements were obtained: 1) body wall thickness (at a point between the 12th and 13th rib,  
145 five inches from the midline of the carcass); 2) fat thickness perpendicular to the *m. longissimus*  
146 *thoracis* (LM), measured over the center of the ribeye between the 12th and 13th rib; 3) LM  
147 surface area, measured using a grid reading of the cross sectional area of the ribeye between 12th  
148 and 13th rib, 4) kidney, pelvic and heart fat (KPH), and 5) leg circumference. The KPH was  
149 manually removed from the carcass, weighed, and reported as a percentage of the cold carcass  
150 weight (USDA, 1982). Each carcass was split into two halves. The left side was fabricated into  
151 wholesale cuts, without trimming, according to the North American Meat Processors Association  
152 guidelines (NAMP, 1997). Rack, breast, shoulder and foreshank were obtained from the  
153 foresaddle, and the loins, flank and leg from the hindsaddle. Weight of each cut was  
154 subsequently recorded. The tissue composition of shoulder was assessed using physical  
155 dissection by the procedure described by Luaces et al. (2008).

### 156 **2.4. Visceral mass data**

157 Components of the digestive tract (GIT), including tongue, esophagus, stomach (rumen,  
158 reticulum, omasum, and abomasum), pancreas, liver, gall bladder, small intestine (duodenum,  
159 jejunum, and ileum), and large intestine (caecum, colon, and rectum) were removed and  
160 weighed. The GIT was then washed, drained, and weighed to get empty weights. The difference  
161 between full and washed digesta-free GIT was subtracted from the SBW to determine empty  
162 body weight (EBW). All tissue weights are reported on a fresh tissue basis. Organ mass is

163 expressed as grams of fresh tissue per kilogram of final EBW, where final EBW represents the  
164 final full live weight minus the total digesta weight. Full visceral mass was calculated by the  
165 summation of all visceral components (stomach complex + small intestine + large intestine +  
166 liver + lungs + heart), including digesta. The stomach complex was calculated as the digesta-free  
167 sum of the weights of the rumen, reticulum, omasum and abomasum.

## 168 **2.5. Statistical analyses**

169 Growth performance (ADG, DMI, gain efficiency), estimated dietary NE and DMI, and  
170 carcass data were analyzed as a randomized complete block design, using pen as the  
171 experimental unit (SAS, 2007). Water intake was analyzed as repeated measures. Visceral organ  
172 mass data was analyzed using the MIXED procedure (SAS, 2007), with treatment and pen as  
173 fixed effects and interaction treatment  $\times$  pen and individual carcasses within pen by treatment  
174 subclasses as random effects. Treatment effects were considered significant when the *P*-value  
175 was  $\leq 0.05$ , and tendencies were identified when the *P*-value was  $> 0.05$  and  $\leq 0.10$ .

## 176 **3. Results**

177 Dietary additive intakes averaged 4 mg/kg LW and 0.80 mg/kg LW for EO and MON,  
178 respectively.

179 Treatment effects on water consumption, growth performance and estimates of dietary  
180 energetics are shown in Table 2. Water consumption between EO and Controls lambs was very  
181 similar. In contrast, lambs fed MON consumed 18.1% less ( $P < 0.01$ ) water than Controls and EO  
182 groups.

183 Average daily gain was similar for Controls and EO supplemented lambs. However,  
184 supplemental EO tended ( $P=0.07$ ) to decrease DMI. Consequently, gain efficiency for EO  
185 supplemented lambs was greater (4.7%,  $P<0.05$ ) than that of Control lambs.

186 Compared to MON, EO supplementation increased ( $P<0.05$ ) DMI (9.3%), ADG (13.2%)  
187 and gain efficiency (4.7%,  $P<0.05$ ). Compared to Controls, MON supplementation decreased  
188 ( $P<0.05$ ) DMI (11.6%) and ADG (11.7). However, gain efficiency was not different.

189 Compared with Control lambs, EO supplementation increased (4%,  $P<0.05$ ) estimated  
190 dietary NE. Compared with MON, supplemental EO tended (2.2%,  $P = 0.09$ ) to improve dietary  
191 NE. Compared to Controls, differences in dietary NE due to MON supplementation was not  
192 appreciable ( $P=0.18$ ).

193 The treatments effects on carcass characteristics, whole cuts and visceral mass are  
194 shown in Tables 3 and 4. With exception of carcass weight and weight of the intestine and  
195 visceral fat depots expressed as g/kg EBW, treatment effects on carcass characteristics were  
196 small and not appreciable. Consistent with slower ADG, lambs fed MON had lower (4.6%,  
197  $P<0.05$ ) HCW than lambs receiving EO, and tended ( $P=0.08$ ) to have lower HCW than Control  
198 lambs. Compared with Controls, EO and MON supplementation decreased ( $P<0.05$ ) relative  
199 weight of intestines (3.8%) and omental fat (9.7%). Relative weight of visceral fat was lower to  
200 EO than Controls (9.1%,  $P<0.05$ ). EO supplemented lambs had lower relative weight of  
201 mesenteric fat than lambs receiving MON (21.7%,  $P<0.05$ ).

#### 202 **4. Discussion**

203 Similarly to our results, it has been reported absence of effects on water intake in finishing  
204 feedlot cattle that daily received up to 19 mg eugenol or cinnamaldehyde/kg LW (Ornaghi et al.,  
205 2017). On the other hand, reduced water consumption with MON supplementation has been  
206 previously reported in non-ruminant species (EFSA, 2008). The basis for this effect is uncertain,  
207 and appears to be unrelated to differences on DMI. Water consumption per kg DMI averaged 2.00,  
208 2.11 and 2.22 for MON, Control, and EO treatments, respectively.

209 Although supplemental essential oils may be grouped together as a class, their chemical  
210 structure and composition vary (Dhifi et al., 2016). Consequently, their effects on DMI and  
211 animal performance may likewise vary. De Souza et al. (2019), evaluating 4 distinct EO blends  
212 in heifers, observed that in comparison with non-supplemented controls, some EO blends  
213 (eugenol + thymol + vanillin + clove) supplemented at 4g/heifers/day, enhanced ADG and gain  
214 efficiency, whereas others (eugenol+ thymol+ vanillin) only affected DM intake. To our  
215 knowledge, only one study directly assessed the comparison of supplemental EO vs  
216 supplemental MON (25 mg/kg diet DM) in feedlot lambs (Moura et al., 2017). In that 56-d  
217 growth-performance study involving Dorper lambs (22 kg) fed a moderately low-energy  
218 finishing diet (forage:concentrate ratio of 53:47, 1.83 Mcal NE<sub>m</sub>/kg DM), supplementation with  
219 0.5 g copaiba essential oils/kg DM (equivalent to 370 mg/lamb/day; terpene class, primarily  
220 caryophyllene and colavenol) did not affect DMI, but markedly increased ADG (16.8%) and  
221 gain efficiency (6.9%) compared to non-supplemented and MON supplemented groups.  
222 However, they observed that EO supplementation at 1,000 or 1,500 mg/kg DM depressed lamb  
223 growth performance. Compared with non-supplemented lambs, Chaves et al. (2008) did not  
224 observe an effect of supplemental EO (200 mg/kg diet, as cinnamaldehyde or carvacrol) on DMI.

225 Parvar et al. (2018) observed a linear decrease in DMI of lambs with increasing level of  
226 supplemental EO (0, 250, and 750 mg/kg diet DM of a mixture of  $\alpha$ -pinene and  $\alpha$ -ocimene).

227         Supplementation with 1,000 to 4,000 mg/d of an EO blend comparable to that of the  
228 present study (thymol, eugenol, vanillin, guaiacol, and limonene) did not affect DMI of feedlot  
229 cattle (Benchaar et al., 2006; Meyer et al., 2009). Whereas in other studies, supplementation with  
230 0 vs 834 or 4000 mg/d of the same EO blend increased DMI of feedlot steers and heifers,  
231 respectively (Meschiati et al., 2019; De Souza et al., 2019). Using an EO blend comparable to  
232 that of the present study supplemented at levels of 0, 50 or 150 mg/day did not affect DMI of  
233 lactating ewes (Giannenas et al., 2011).

234         Several studies have been conducted comparing the effects of supplemental EO (similar  
235 to that of the present study) vs MON and feedlot cattle growth performance. Meyer et al. (2009),  
236 observed that compared with MON, supplementation of feedlot steers with 2.5 mg EO/kg LW  
237 numerically increased ADG (2.8%) and gain efficiency (4%). Meschiatti et al. (2019) observed  
238 that compared with MON, supplementation of feedlot bulls with 834 mg EO/d increased DMI  
239 and ADG (6.9 and % 5.7%, respectively), although gain efficiency was not affected. In contrast,  
240 supplementation with 4,000 mg EO/day vs MON did not affect growth performance of steers and  
241 heifers fed a low-energy silage-based diet (1.50 Mcal NE<sub>m</sub>/kg). Araujo et al. (2019) did not  
242 detect differences in 208-day growth performance of feedlot steers fed corn-silage-based  
243 growing-finishing diet supplemented with 33 mg MON/kg diet DM vs 150 mg EO/kg diet DM  
244 (mixture of carvacrol + thymol + eugenol).

245         In as much as supplemental EO may enhance metabolizable protein supply to the small  
246 intestine (Samii et al., 2016; Soltan et al., 2018), variation in growth performance responses to  
247 supplemental EO may be due, in part, to adequacy of the basal diet in meeting the increased

248 metabolizable protein requirements during the initial start-up phase. Compared with MON,  
249 supplementation with EO (blend comparable to that of the present study) enhancements in DMI, ADG  
250 and/or gain efficiency were most apparent during the initial 19 to 30 days on feed (Meschiatti et al., 2016;  
251 Acedo et al., 2018).

252 Observed-to-expected dietary NE and the observed-to-expected DMI ratio for the lambs fed  
253 the control diet was 0.99 (DMI was consistent with expectations based on observed ADG and  
254 formulated NE value of the diet, Table 1). This close agreement is supportive of the practicality  
255 of prediction equations for the estimation of DMI in relation to SBW and ADG in feedlot lambs.  
256 A dietary NE ratio (observed-to-expected dietary NE) of 1.0 is indicative that daily weight gain  
257 was consistent with observed DMI and tabular NE value of the diet (NRC, 2007). If the ratio is  
258 greater than 1, the observed dietary NE (estimated dietary NE based on growth-performance) is  
259 greater than expected based on growth performance and diet formulation, indicative of enhanced  
260 metabolizable energy utilization for maintenance and gain (the reverse being the case when the  
261 ratio is less than 1). As stated above, compared with Control lambs, EO supplementation  
262 enhanced (4%,  $P < 0.05$ ) estimated dietary NE, and compared with MON, supplemental EO  
263 tended (2.2%,  $P = 0.09$ ) to enhance dietary NE. The basis for improved dietary energy utilization  
264 for growth due to supplemental EO is not clear, but could be due to effects of supplemental EO  
265 toward decreased ruminal acetate:propionate molar ratio, and enhanced N and starch utilization  
266 (Khiaosa and Zabelli, 2013; Samii et al., 2016, Meschiatti et al., 2016). Accordingly the time  
267 length of the trial could affect the overall responses to EO supplementation. To our knowledge  
268 no information is available regarding the interaction of level and duration of EO supplementation  
269 in lamb performance, although as stated previously, the response to EO supplementation appears

270 more pronounced during the early phase of supplementation (Maschiatti et al., 2016; Acedo et  
271 al., 2018).

272           Decreased on DMI and enhanced gain efficiency of feedlot cattle as a result of MON  
273 supplementation is well-documented (Duffield et al., 2012). Decreases on DMI in cattle fed  
274 MON has been attributed to taste preference (Erickson et al., 2004). Decrease in ADG observed  
275 in lambs fed MON is more directly related to decrease in DMI. The effect of supplemental MON  
276 on gain efficiency in feedlot cattle has been variable, ranging from nil to greater than 18%  
277 (Barreras et al., 2013). In a meta-analysis, Duffield et al. (2012) observed that, during the past 40  
278 years, the impact of MON on gain efficiency decreased from an average of 8.1 to 3.5%. This  
279 change may be attributable to increases in NE value of the finishing diet. Accordingly, the effect  
280 of MON was optimal at energy levels under 1.37 Mcal NE<sub>g</sub>/kg diet DM, becoming negligible at  
281 dietary energy densities of  $\geq 1.55$  Mcal NE<sub>g</sub>/kg (Barreras et al., 2013). Considering the observed  
282 NE<sub>g</sub> of the basal diet (1.48 Mcal NE<sub>g</sub>/kg; Table 2), less appreciable gain efficiency response to  
283 supplemental was expected.

284           Lack of treatment effects on carcass cutout and tissue composition is consistent with  
285 previous studies (Salinas-Chavira et al., 2010; Koyunco and Canbolat, 2010; Moura et al., 2017;  
286 Parvar et al., 2018 ). The lower HCW observed to lambs fed MON is consistent with the decrease  
287 ADG resulted in lower final weight.

288           Compared to Controls, EO supplementation numerically increased (8%) FT. Increased FT  
289 with EO supplementation had been reported in lambs fed diets of moderate energy density (Soares  
290 et al., 2012; Moura et al., 2017). However, supplemental EO has not affected FT in feedlot cattle  
291 fed high-energy diets (Da Souza et al., 2019; Araujo et al., 2019). Likewise, the influence of



292 supplemental MON on FT in feedlot cattle has been largely non-appreciable (Barreras et al., 2013;  
293 Montano et al., 2015).

294 Both MON and EO supplementation decreased the proportion of intestine as a percentage  
295 of EBW. The basis for this is not certain, but may be attributable to antibiotic-like effects on  
296 epithelial thickness (Ghazanfari et al., 2015). The effects of supplemental EO on fat distribution  
297 among depots is uncertain. It has been proposed that supplemental EO may have potential as an  
298 energy “repartitioning” agent, affecting net fat deposition and distribution (Kuester, 2016). This  
299 can partially explained the changes promote in meat quality of lambs by EO supplementation  
300 (Parvar et al., 2018; García-Galicia et al., 2020). To the extent that EO reduces ruminal  
301 acetate:propionate ratio (Meyer et al., 2009; Koyunco and Canbolat, 2010; Wanapat et al., 2013),  
302 the associated increase in propionate production lends to decreased visceral fat deposition (Smith  
303 and Crouse, 1984).

## 304 **5. Conclusions**

305 It was concluded that supplemental EO (as a blend of thymol, eugenol, vanillin, guaiac,  
306 and limonene) may enhance average daily gain and/or feed efficiency when compared with non-  
307 supplemented lambs or with lambs supplemented with monensin. Lambs fed with supplemental  
308 EO showed less visceral fat without negative effects on carcass characteristics or on visceral  
309 organ mass. As such, supplemental EO is a viable alternative to the antibiotic monensin in  
310 finishing high-energy diets for lambs.

## 311 **Conflict of interest statement**

312 Author declare no conflict of interest.

## 313 **References**

314 Acedo, T.S., Goulard, R., Gouvea, V., Machado, G.F., Leme, P.R., Metto, A.S., Silva S.L., 2018.  
315 Effect of essential oils and exogenous enzyme on adaptation period of cattle fed different  
316 roughages sources. *J. Anim. Sci.* 96 Suppl. 3, 441-442 (Abstr.).

317 AOAC, 2000. *Official Methods of Analysis*. Association of Official Analytical Chemists.  
318 Gaithersburg, MD.

319 Appuhamy, J.A.D.R.N., Strathe, A.B., Jayasundara, S., Wagner-Riddle, C., Dijkstra, J., France,  
320 J., Kebreab, E., 2013. Anti-methanogenic effects of monensin in dairy and beef cattle: A  
321 meta-analysis. *J. Dairy Sci.* 96, 5161-5173.

322 Araujo, R.C., Daley, D.R., Goodall, S.R., Jalil, S., Guimares-Bisnieto, O.A., Bude, A.M., J.J.  
323 Warner, Engle, T.E., 2019. Effects of a microencapsulated blend of essential oils  
324 supplemented alone or in combination with monensin on performance and carcass  
325 characteristics of growing-finishing beef steers. *Appl. Anim. Sci.* 35, 177-184.

326 Barreras, A., Castro-Pérez, B.I., López Soto, M.A., Torrentera, N.G., Montaña, M.F., Estrada-  
327 Angulo, A., Ríos, F.G., Dávila-Ramos, H., Plascencia, A., Zinn, R.A., 2013. Influence of  
328 ionophore supplementation on growth performance, dietary energetics and carcass  
329 characteristics in finishing cattle during period of heat stress. *Asian-Australas. J. Anim.*  
330 *Sci.* 26, 1553-1561.

331 Benchaar, C., Chaves, A.V., Fraser, G.R., Wang, Y., Beauchemin, K.A., McCallister, T.A.,  
332 2007. Effects of essential oils and their components on in vitro rumen microbial  
333 fermentation. *Can. J. Anim. Sci.* 87, 413-419.

334 Cannas, A., Tedeschi, L.O., Fox, D.G., Pell, A.N., Van Soest, P.J., 2004. A mechanistic model  
335 for predicting the nutrient requirements and feed biological values for sheep. *J. Anim.*

336 Sci. 82,149-169.

337 Canton, J.G., Quintal, J.A., 2007. Evaluation of growth and carcass characteristics of pure  
338 Pelibuey sheep and their cross with Dorper and Katahdin breeds. *J. Anim. Sci.* 85 (Suppl.  
339 1), 581. (Abstr.).

340 Chaves, A. V., Stanford, K., Gibson, L., McAllister, T.A., Benchaar, C., 2008. Effects of  
341 cinnamaldehyde, garlic and juniper berry essential oils on rumen fermentation, blood  
342 metabolites, growth performance, and carcass characteristics of growing lambs. *Liv.*  
343 *Sci.*117, 215-224

344 De Souza, K.A., Monteschio, J.O., Mottin, C., Ramos, T.R., Pinto, L.A., Eiras, C.E., Guerrero,  
345 A., Prado, I.N., 2019. Effect of diet supplementation with clove and rosemary essential  
346 oils and protected oils (eugenol, thymol and vanillin) on animal performance, carcass  
347 characteristics, digestibility, and ingestive behavior activities in Nellore heifers finished  
348 in feedlot. *Liv. Sci.* 220, 190-195.

349 Dhifi, W., Bellini, S., Jazi, S., Bahloul, N., Mnif, W., 2016. Essential oils' chemical  
350 characterization and investigation of some biological activities: A critical review.  
351 *Medicines* 3, 25.

352 Duffield, T.F., Merrill, J.K., Bagg, R.N., 2012. Meta-analysis of the effects of monensin in beef  
353 cattle on feed efficiency, body weight gain, and dry matter intake. *J. Anim. Sci.* 90, 4583-  
354 4592.

355 EFSA, 2008. Cross-contamination of non-target feeding stuffs by monensin authorised for use as  
356 a feed additive. *EFSA J.* 592, 1-40.

357 Erickson, P.S., Davis, M.L., Murdock, C.S., Pastir, K.E., Murphy, M.R., Schwab, C.G.,  
358 Mardens, J.I., 2004. Ionophore taste preferences on dairy heifers. *J. Anim. Sci.* 82, 3314-  
359 3320.

360 García-Galicia, I.A., Arras-Acosta, J.A., Huerta-Jimenez, M., Rentería-Monterrubio A.L., Loya-  
361 Olguín, J.L., Carrillo-López, L.M., Tirado-Gallegos, J.M., Alarcón-Rojo, A.D., 2020.  
362 Natural oregano essential oil may replace antibiotics in lamb diets: Effects on meat  
363 quality. *Antibiotics.* 9, 248.

364 Ghazanfari S., Mohammadi, Z., Adib-Moradi, M., 2015. Effects of coriander essential oil on the  
365 performance, blood characteristics, intestinal microbiota and histological of broilers.  
366 *Braz. J. Poultry Sci.* 17, 419-426.

367 Giannenas, I., Skoufus, J., Giannakopoulos, C., Wiemann, M., Gortzi, O., Lalas, O., Kyriazakis,  
368 S., 2011. Effects of essential oils on milk production, milk composition, and rumen  
369 microbiota in Chios dairy ewes. *J. Dairy Sci.* 94, 5569-5577.

370 Khateri, N., Azizi, O., Jahani-Azizabadi, H., 2017. Effects of specific blend of essential oils on  
371 apparent nutrient digestion, rumen fermentation and rumen microbial populations in  
372 sheep fed 50:50 alfalfa hay:concentrate diet. *Asian Australas. J. Anim. Sci.* 30, 370-378.

373 Khiaosa, R., Zabelli, Q., 2013. Meta-analysis of the effects of essential oils and their bioactive  
374 compounds on rumen fermentation characteristics and feed efficiency in ruminants. *J.*  
375 *Anim. Sci.* 91, 1819-1830.

376 Koyunco, M., Canbolat, O., 2010. Effect of carvacrol on intake, rumen fermentation, growth  
377 performance and carcass characteristics of growing lambs. *J. Appl. Anim. Res.* 38, 245-  
378 248.

379 Kuester, O. J., 2016. An evaluation of feeding a blend of essential oils and cobalt lactate to  
380 lactating dairy cows. Theses and Dissertations. 1051.  
381 <http://openprairie.sdstate.edu/etd/1051>. Accessed November 20, 2019.

382 Luaces, M.L., Calvo, C., Fernández, B., Fernández, A., Viana, J.L., Sánchez, L., 2008.  
383 Ecuaciones predictoras de la composición tisular de las canales de corderos de raza  
384 gallega. Arch. Zootec. 57, 3-14.

385 Meschiatti, M.A.P., Pellarin, L.A., Batalha, C.D.A., Acedo, T.S., Tamassia, L.F.M., Cortinhas,  
386 C.S., Gouvea, V.N.D., Santos, F.A.P., Dórea, J.R., 2016. Effects of essential oils and  
387 exogenous enzymes on intake, digestibility, and rumen fermentation in finishing Nellore  
388 cattle: J. Anim. Sci. Vol. 94 E-Suppl. 5, 759 (Abstr.).

389 Meschiatti, M.A.P., Gouvea, V.N., Pellerini, L.A., Batalha, C.D.A., Bielhl, M.V., Acedo, T.S.,  
390 Dórea, J.R.R., Tamasia, L.F.M., Owens, F.N., Santos, F.A.P., 2019. Feeding the  
391 combination of essential oils and exogenous amylase increases performance and carcass  
392 production of finishing cattle. J. Anim. Sci. 97,456-471.

393 Meyer, N.F., Erickson, G.E., Klopfenstein, T.J., Greenquist, M.A., Luebbe, M.K., Williams, P.,  
394 Engstrom, M.A., 2009. Effect of essential oils, tylosin, and monensin on finishing steer  
395 performance, carcass characteristics, liver abscesses, ruminal fermentation, and  
396 digestibility. J. Anim. Sci. 87, 2346–2354.

397 Montano, M.F., Manriquez, O.M., Salinas-Chavira, J., Torrentera, N., Zinn, R.A., 2015. Effects  
398 of monensin and virginiamycin supplementation in finishing diets with distiller dried  
399 grains plus solubles on growth performance and digestive function of steers. J. Appl.  
400 Anim. Res. 43, 417–425.

401 Moura, L.V., Oliveira, E.R., Fernandes, A.R.M., Gabriel, A.M.A., Silva, L.H.X., Takiya, C.S.,  
402 C nsolo, N.R.B., Rodrigues, G.C.G., Tha s Lemos, Gandra, J.R., 2017. Feed efficiency  
403 and carcass traits of feedlot lambs supplemented either monensin or increasing doses of  
404 copaiba (*Copaifera* spp.) essential oil. *Anim. Feed Sci. Technol.* 232, 110-118.

405 NAMP. 1997. The meat buyers guide. North American Meat Processor Association, Weimar,  
406 TX.

407 NOM, Norma Oficial Mexicana. NOM-062-ZOO-1999. Especificaciones t cnicas para la  
408 producci n, cuidado y uso de los animales de laboratorio 1997. [http://www.fmvz.](http://www.fmvz.unam.mx/fmvz/principal/archivos/062ZOO.PDF)  
409 [unam.mx/fmvz/principal/archivos/062ZOO.PDF](http://www.fmvz.unam.mx/fmvz/principal/archivos/062ZOO.PDF). Accessed April 3 2019.

410 NRC, 1985. Nutrient requirement of sheep. 6th ed. National Academy Press. Washington, DC.

411 NRC, 2007. Nutrient requirement of small ruminant. Sheep, Goats, Cervids, and New World  
412 Camelids. National Academy Press. Washington, DC.

413 Ornaghi, M.G., Pasetti, R.A.C., Torrecilhas, J.A., Mottin, C., Vital, A.C.P., Guerrero, A.,  
414 Sa udo, C., del Mar Campo, M. Prado, I.N., 2017. Essential oils in the diet of young  
415 bulls: Effects on animal performance, digestibility, temperament, feeding behavior and  
416 carcass characteristics. *Anim. Feed Sci. Technol.* 234, 274-283.

417 Parvar, R., Ghoorchi, T., Kashfi, H., Parvar, K., 2018. Effect of *Ferulago angulata* (Chavil)  
418 essential oil supplementation on lamb growth performance and meat quality  
419 characteristics. *Small Rum. Res.*167, 48-54.

420 Safaei, K, Tahmasbi, A.M., Moghaddam, G., 2014. Effects of high concentrate:forage ratio diets  
421 containing monensin on the management of ruminal acidosis in Gezhel lambs. *Small*  
422 *Rum. Res.*121, 183-187.

423 Salinas-Chavira, J., Lara-Juárez, A., Gil-González, A., Jiménez-Castro, García-Castillo, R.,  
424 Ramírez-Bribiesca, E., 2010. Effect of breed type and ionophore supplementation on  
425 growth and carcass characteristic in feedlot hair lambs. R. Bras. Zootec. 39, 633-637.

426 Samii, S.S., Wallace, N., Nagaraja, T.G., Engstrom, M.A., Miesner, M.D., Armendariz, C.K.,  
427 Titgemeyer, E.C., 2016. Effects of limonene on ruminal *Fusobacterium necrophorum*  
428 concentrations, fermentation, and lysine degradation in cattle. J. Anim. Sci.94, 3420-  
429 3430.

430 SAS, 2007. User's Guide: Statistics Version 9, 6th ed. SAS Inst., Inc., Cary, NC.

431 Smith, S. B., Crouse, J.D., 1984. Relative contributions of acetate, lactate and glucose of  
432 lipogenesis in bovine in muscular and subcutaneous adipose tissue. J. Nutr. 114, 792-  
433 800.

434 Soares, S.B., Furusho-Garcia, I.F., Pereira, I.G., Alves, D.O., Silva, G.R., Almeida, A.K., Lopes,  
435 C.M., Sena, J.A.B., 2012. Performance, carcass characteristics and noncarcass  
436 components of Texel ×Santa Ines lambs fed fat sources and monensin. Rev. Bras. Zootec.  
437 41, 421-431.

438 Soltan, Y.A., Natel, A.S., Araujo, R.C., Morsy, A.S., Abdalla, A.L., 2018. Progressive  
439 adaptation of sheep to a microencapsulated blend of essential oils: Ruminant  
440 fermentation, methane emission, nutrient digestibility, and microbial protein synthesis.  
441 Anim. Feed Sci. Technol.237, 8-18.

442 USDA, 1982. Official United States Standards for Grades of Carcass Lambs, Yearling Mutton  
443 and Mutton Carcasses. Agric. Marketing.

444 Van Soest, P.J., Robertson, J.B., Lewis, B.A., 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent  
445 fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J. Dairy Sci.* 74,  
446 3583–3597.

447 Wanapat, M., Kang, S., Khejornsart, P., Wanapat, S., 2013. Effect of plant herb combination  
448 supplementation on rumen fermentation and nutrient digestibility in beef cattle. *Asian-  
449 Australas. J. Anim. Sci.* 26, 1127-1136.

450 Zinn, R. A., 1988. Comparative feeding value of supplemental fat in finishing diets for feedlot  
451 steers supplemented with and without monensin. *J. Anim. Sci.* 66, 213–227.

452 Zinn, R.A., Barreras, A., Owens, F.N., Plascencia, A., 2008. Performance by feedlot steers and  
453 heifers: ADG, mature weight, DMI and dietary energetics. *J. Anim. Sci.* 86, 1-10.

454 Zinn, R. A., Plascencia, A., Barajas, R., 1994. Interaction of forage level and monensin in diets  
455 for feedlot cattle on growth performance and digestive function. *J. Anim. Sci.* 72, 2209–  
456 2215.

457

458

459

460

461

462

463



464

465

466

467 **Table 1** Composition of experimental diets fed to lambs (DM basis)

Item	Treatments		
	Control	MON	EO
Ingredient composition (% , DM)			
Corn grain cracked	64.50	64.50	64.50
Monensin (sodium salt) <sup>1</sup>	---	+++	---
Essential oil compounds <sup>2</sup>	---	---	+++
Soybean meal	10.50	10.50	10.50
Sudan grass hay	10.00	10.00	10.00
Molasses cane	9.00	9.00	9.00
Yellow grease	3.50	3.50	3.50
Urea	0.40	0.40	0.40
Minerals supplement <sup>3</sup>	2.10	2.10	2.10
Nutrient composition (DM basis) <sup>4</sup>			
Net energy (Mcal/kg)			
Maintenance	2.14	2.14	2.14
Gain	1.47	1.47	1.47
Crude protein (%)	13.80	13.80	13.80
NDF (%)	15.53	15.53	15.53
Ether extract (%)	6.43	6.43	6.43

468 <sup>1</sup> MON = Sodium monensin fed at dose of 30 mg/lamb/day (Rumensin 90, Elanco Animal  
469 Health, Indianapolis, IN).

470 <sup>2</sup> EO= a mixture of essential oils (CRINA® Ruminants, DSM Nutritional Products, Basel,  
471 Switzerland) fed ay dose of 150 mg/lamb/day.

472 <sup>3</sup> Minerals supplement contained (%): CoSO<sub>4</sub>, 0.068; CuSO<sub>4</sub>, 1.04; FeSO<sub>4</sub>, 3.57; ZnO, 1.24;  
473 MnSO<sub>4</sub>, 1.07; KI, 0.052; limestone, 56.96%; urea, 18%, and NaCl, 18%.

474 <sup>4</sup> Based on tabular values for individual feed ingredients (NRC, 2007) with the exception of CP  
 475 and NDF, which were determined in our laboratory.

476

477

478

479 **Table 2.** Treatments effect on growth performance in finishing lambs

Item	Treatments <sup>1</sup>			SEM
	Control	MON	EO	
Live weight (kg) <sup>1</sup>				
Initial	28.49	28.40	28.61	0.157
Final	44.74a	42.74b	45.12a	0.458
Water consumption (L/d)	2.55a	2.10b	2.58a	0.032
Daily gain (kg)	0.290a	0.256b	0.295a	0.008
Dry matter intake (kg/d)	1.190a	1.052b	1.160a	0.027
Gain to feed (kg/kg)	0.244a	0.244a	0.256b	0.002
Observed dietary NE (Mcal/kg)				
Maintenance	2.16a	2.19ab	2.23b	0.017
Gain	1.48a	1.51ab	1.55b	0.015
Observed to expected dietary NE				
Maintenance	1.01a	1.02ab	1.04b	0.007
Gain	1.01a	1.03ab	1.05b	0.010
Observed to expected DM intake	0.99a	0.97ab	0.95b	0.009

480 <sup>a,b,c</sup> Means in the same row with different superscript letters differ.

481 <sup>1</sup> MON = Sodium monensin fed at dose of 30 mg/lamb/day (Rumensin 90, Elanco Animal Health,  
 482 Indianapolis, IN); <sup>2</sup> EO= a mixture of essential oils (CRINA® Ruminants, DSM Nutritional Products,  
 483 Basel, Switzerland) fed ay dose of 150 mg/lamb/day.

484

485

486

487

488  
 489  
 490  
 491  
 492  
 493

**Table 3.** Treatments effect on carcass characteristics and whole cuts of lambs

Item	Treatments <sup>1</sup>			SEM
	Control	MON	EO	
Hot carcass weight (kg)	26.71ab	25.97a	27.23b	0.26
Dressing percentage	59.70	60.72	60.35	0.48
Cold carcass weight (kg)	26.37ab	25.63a	27.00b	0.24
Longissimus muscle area (cm <sup>2</sup> )	15.90	15.51	15.77	0.16
Kidney-pelvic-heart fat (%)	3.78	4.16	3.95	0.20
Back fat thickness (cm)	2.26	2.43	2.46	0.11
Wall thickness (mm)	11.60	12.64	12.68	0.42
Leg circumference (cm)	45.08	45.46	46.42	0.83
Shoulder composition (%)				
Muscle	63.59	64.04	64.50	0.80
Fat	15.13	15.83	15.53	0.85
Muscle to fat ratio	4.20	4.05	4.15	0.16
Whole cuts (as percentage of CCW)				
Forequarter IMPS202	39.71	39.10	39.42	0.23
Hindquarter IMPS230	35.53	35.70	35.31	0.25
Shoulder IMPS206	14.15	14.11	14.15	0.14
Shoulder IMPS207	8.27	7.92	7.97	0.19
Rack IMPS204	6.55	6.63	6.48	0.18
Breast IMPS209	3.75	3.45	3.55	0.20
Loin IMPS231	6.46	6.52	6.44	0.14
Flank IMPS232	5.414	5.43	5.43	0.15

Leg IMPS233 23.66 23.69 23.38 0.22

494 CCW= cold carcass weight

495 <sup>a,b,c</sup> Means in the same row with different superscript letters differ.

496 <sup>1</sup> MON = Sodium monensin fed at dose of 30 mg/lamb/day (Rumensin 90, Elanco Animal Health,  
497 Indianapolis, IN); <sup>2</sup> EO= a mixture of essential oils (CRINA® Ruminants, DSM Nutritional Products,  
498 Basel, Switzerland) fed ay dose of 150 mg/lamb/day.

499 **Table 4.** Treatments effect on visceral mass characteristics of lambs

Item	Treatments <sup>1</sup>			SEM
	Control	MON	EO	
EBW (percentage of full weight)	90.82	91.13	90.29	0.77
Organs (g/kg of EBW)	59.70	60.72	60.35	0.48
Stomach complex <sup>2</sup>	29.23	28.96	27.52	0.57
Intestines <sup>3</sup>	46.53a	44.06b	45.46ab	0.64
Heart/lungs	24.45	23.73	24.99	0.62
Liver/spleen	20.08	20.17	20.48	0.58
Kidney	2.81	2.60	2.91	0.12
Omental fat	30.87a	27.45b	28.32b	0.75
Mesenteric fat	7.29ab	8.15a	6.38b	0.46
Visceral fat	38.16a	35.60ab	34.70b	1.00

500 EBW = empty body weight.

501 <sup>a,b,c</sup> Means in the same row with different superscript letters differ.

502 <sup>1</sup> MON = Sodium monensin fed at dose of 30 mg/lamb/day (Rumensin 90, Elanco Animal Health,  
503 Indianapolis, IN); <sup>2</sup> EO= a mixture of essential oils (CRINA® Ruminants, DSM Nutritional Products,  
504 Basel, Switzerland) fed ay dose of 150 mg/lamb/day.

505 <sup>2</sup> Stomach complex = (rumen + reticulum + omasum + abomasum), without digesta.

506 <sup>3</sup> Small and large intestines without digesta.

507

508

509

510

511

512